

PARA TÍTULOS PROFESIONALES DE ESPECIALISTAS (CUARTO NIVEL)

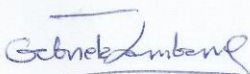
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN y AUTORIZACIÓN

Yo, PATRICIA GABRIELA ZAMBRANO SÁNCHEZ con C.I. 1710037738 autora del trabajo de graduación intitulado: "DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE VITAMINA D EN LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE Y SU RELACIÓN CON LA SEVERIDAD Y EL COMPORTAMIENTO DE LA ENFERMEDAD EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS Y EN SEGUIMIENTO EN EL HOSPITAL METROPOLITANO DE QUITO Y EN EL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN DE LA PROVINCIA DE PICHINCHA, DESDE OCTUBRE 2013 A OCTUBRE DEL 2014", previa a la obtención del título profesional de ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA en la Facultad de Medicina:

- 1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
- 2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 7 de agosto del 2015



Patricia Gabriela Zambrano Sánchez  
C.I. 1710037738

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
ESPECIALICIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

**DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE VITAMINA D EN LOS PACIENTES  
DIAGNOSTICADOS CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE Y SU RELACIÓN CON LA  
SEVERIDAD Y EL COMPORTAMIENTO DE LA ENFERMEDAD EN PACIENTES  
DIAGNOSTICADOS Y EN SEGUIMIENTO EN EL “ HOSPITAL METROPOLITANO DE  
QUITO” Y EN EL “HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN” DE LA PROVINCIA DE  
PICHINCHA, DESDE OCTUBRE 2013 A OCTUBRE DEL 2014.**

**AUTORA: DRA. PATRICIA GABRIELA ZAMBRANO SÁNCHEZ**

**DIRECTOR: DR. FRANCISCO CORDERO RUEDA  
DIRECTOR METODOLOGICO: DR. ALVARO VILLACRES**



## **DEDICATORIA**

A mi hija Isabella y a mi esposo Felipe quienes son mi fuerza e impulso constante.

A todos los pacientes con enfermedades neurológicas de base Inmunológica en los que la vitamina D puede modular el comportamiento de la enfermedad.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Patricio Abad, quién despertó en mi el anhelo de investigar en Ecuador y alimentó mi entusiasmo por descubrir la verdad.

Al Dr. Francisco Cordero quien considero este proyecto como importante, facilitó y guió cada paso de este proceso.

Al Dr. Víctor Paredes, quien con su amabilidad y conocimiento me facilitó acceder a la vida y motivaciones de sus pacientes.

Al Dr. Raúl Flores, quien con su apoyo incondicional hizo posible el procesamiento de las muestras y sembró en mí el entendimiento de la Inmunología.

A la Dra. Rosa Terán quien desde el inicio aprobó este proyecto y depositó su confianza en mí.

Al Dr. Álvaro Villacres, amigo que con su gran entendimiento en bioestadística transformó nuestras ideas en procesos matemáticos que revelaron el conocimiento ahora compartido.

Al Hospital Metropolitano y al Hospital Carlos Andrade Marín lugares de formación que siempre llevo en mi corazón.

# ÍNDICE

GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	II
Resumen.....	IV
Summary.....	VI
CAPÍTULO I:	
1.1 Introducción.....	1
1.2 Justificación.....	2
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1 Sobre la Esclerosis Múltiple.....	4
2.2 La Esclerosis Múltiple en América Latina.....	4
2.3 Sobre la Vitamina D.....	5
2.4 Efectos Inmunomoduladores de la Vitamina D.....	7
2.5 Vitamina D y la EM.....	8
2.6 Vitamina D y su importancia dentro de la presencia de EM en Ecuador.....	12
2.7 Vitamina D y Fototipo Cutáneo de Fitzpatrick.....	14
2.8 Suplementación y Nivelación de Vitamina D en la sangre.....	15
CAPITULO III : OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION	
3.1 Planteamiento del Problema.....	17
3.2 Objetivo Principal.....	17
3.3 Objetivos Secundarios.....	17
3.4 Hipótesis.....	18
CAPITULO IV: METODOLOGIA Y TÉCNICAS	
4.1 Metodología.....	19
4.2 Universo de estudio y obtención de la muestra.....	20
4.3 Operacionalización de Variables.....	25
4.4 Matriz de Variables.....	29
4.5 Criterios de Inclusión y Exclusión.....	30
4.6 Diseño general del Estudio.....	31
4.7 Procedimientos de Recolección de la Información.....	31
4.8 Procedimientos de Diagnóstico .....	32
4.8.1 Valores de Referencia de Vitamina D .....	32
4.9 Plan de Análisis de los Resultados.....	34
CAPITULO V: ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	

5.1 Recursos Humanos y Materiales.....	35
5.1.1 Beneficios para los Sujetos Involucrados en el Estudio.....	35
5.1.2 Obtención del Consentimiento para la Participación en el Estudio.....	36
5.1.3 Confidencialidad de la Información.....	36
5.2. Recursos Utilizados.....	37
<b>CAPÍTULO VI : RESULTADOS</b>	
6.1 Limitaciones.....	38
6.2 Análisis Descriptivo de la Población con EM de Pichincha.....	39 a 42
6.3 ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES.....	43
6.3.1 Características Generales de la muestra.....	44
6.3.2.1 Determinación y Comparación de los Niveles de Vitamina D.....	46
6.3.2.2. Relación de los Niveles de Vitamina D y Severidad de la Enfermedad.....	47
6.2.3.3 Relación entre el Comportamiento de la EM y Niveles de Vitamina D.....	48
6.2.3.4 Estudio de los Factores Relacionados con los Niveles de Vitamina D.....	49
6.2.3.5 Análisis Multivariado de los Factores Asociados a Niveles de Vitamina D.....	51
<b>CAPITULO VII :</b>	
7.1 Discusión .....	55 a 65
7.2 Conclusiones.....	66
7.3 Recomendaciones.....	67
8. Bibliografía.....	69
ANEXOS.....	75
ANEXO 1: Encuesta para la Investigación casos.....	76
ANEXO 2: Encuesta para la investigación controles.....	79
ANEXO 3: Consentimiento Informado.....	80
ANEXO 4: Criterios de Mc Donald.....	81
ANEXO 5: Escala de Discapacidad de Kurtzke.....	82
ANEXO 6: Escala de Fitzpatrick.....	83
ANEXO 7: Estudios de prevalencia de Déficit de Vitamina D a nivel mundial.....	84
ANEXO 8: Códigos a utilizarse.....	85
ANEXO 9: Foto de la máquina cobas E411 de Roche.....	90
ANEXO 10: Foto de la centrifugación de las muestras.....	90
ANEXO 11: Inmunofisiopatología de la Vitamina D.....	91
ANEXO 12: Mapa de Irradiación Solar del Ecuador.....	92
ANEXO13: Irradiación Solar en el Ecuador.....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Demostración del Método Utilizado para Cálculo de la Muestra.....	21
Tabla 2: Valores Referenciales DE 25 (OH) Vitamina D.....	33
Tabla 3: Comparación de Variables entre el Universo y la Muestra de Estudio.....	45
Tabla 4: Comparación entre los Niveles de vitamina D de los Pacientes con EM y Controles Sanos de la Población General.....	46
Tabla 5: Comparación entre los Niveles de Vitamina D de los Pacientes con EM según su Grado de Discapacidad.....	48
Tabla 6: Prueba T de Niveles de Vitamina D según Tasa de Recaídas .....	48
Tabla 7: Prueba T entre los Niveles de Vitamina D de los Pacientes con EM según su nivel Exposición Solar.....	50
Tabla 8: Parámetros Estadísticos de la Regresión Lineal.....	52
Tabla 9: Variables Incluidas dentro de la Regresión Lineal.....	53



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Género y Grupo de Edad.....	39
Figura 2: Tipos de Esclerosis Múltiple.....	40
Figura 3: Trimestres de Nacimiento en Pacientes con EM.....	40
Figura 4 : Comorbilidades en Pacientes con EM.....	41
Figura 5 : Fototipo Cutáneo en Pacientes con EM.....	42
Figura 6: Medias de la Escala de Kurtzke y Tipo de EM.....	43
Figura 7 : Media de Recaídas y Años de Diagnóstico.....	43
Figura 8 : Gráfico de Dispersión de Valores de Vitamina D en Pacientes con EM en Relación con Escala de Kurtzke.....	47
Figura 9 : Valores de Vitamina D Y Recaídas.....	49
Figura 10: Niveles de Vitamina D y Exposición Solar en Pacientes con EM .....	50

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

- **Fototipo de Fitzpatrick.**-Fototipo es la capacidad de la piel para asimilar la radiación solar. Su clasificación oscila entre I y VI según la escala Fitzpatrick, una clasificación numérica para el color de la piel desarrollado en 1975 por Thomas B. Fitzpatrick, un dermatólogo de la Universidad de Harvard como un procedimiento de clasificar la respuesta de los diferentes tipos de piel a la luz ultravioleta (UV).
- **Fenómeno de Uthoff.**- Fenómeno que ocurre en enfermedades desmielinizantes, tales como la Esclerosis Múltiple y que afectan directamente al nervio óptico. Se produce por pequeños cambios en la temperatura corporal (hipertermia). Estos cambios de temperatura bruscos pueden ser causados por un baño caliente, sauna, práctica de ejercicio o esfuerzo corporal. El síntoma clave es una disminución visual brusca, que desaparece cuando la temperatura corporal vuelve a la normalidad. La explicación científica de este fenómeno es que esta hipertermia induce un neuro-bloqueo de los axones parcialmente desmielinizados.
- **Escala de Kurtzke.**- Originalmente desarrollada en 1955 por John Kurtzke, se dividió en diez pasos, donde cero indicaba un estado de salud normal y diez se correspondía con la muerte por EM, lo que es poco frecuente. Dado que esta escala pasaba por alto una serie de leves variaciones en la gravedad de la enfermedad, en 1983 se amplió a 20 pasos mediante la adición de pasos intermedios entre los niveles de uno a diez anteriores (por este motivo, ahora se llama escala ampliada del estado de discapacidad).
- **Haplotipo.**-La mitad del genotipo, es decir, del conjunto de los genes que tiene uno solo de los cromosomas de un par. En inmunología se designa en general, con este término uno o varios genes determinados que regulan un antígeno sanguíneo o tisular situado sólo en este cromosoma.
- **Inmunotolerancia.**-Mecanismo por el cual el sistema inmunitario previene reacción autoinmune patológica, lo que impide que se surjan enfermedades de ese tipo.

- **Electro quimioluminiscencia.**- O quimioluminiscencia electro generada es un tipo de luminiscencia producida durante las reacciones electroquímicas en soluciones.
  - **Recaída, Ataque o Exacerbación.**-Episodio de alteración neurológica, por una lesión de naturaleza inflamatoria y desmielinizante de por lo menos 24 horas de duración, se diferencia de un pseudo ataque, el cual es causado por el cambio de temperatura o un proceso infeccioso. Con propósito de documentar separación en el tiempo se definió que los ataques son separados si existe una diferencia de al menos 30 días diferencia entre ellos.
  - **TREG.**-Población de linfocitos T circulantes denominadas células T reguladoras las cuáles parecen haber migrado del timo durante estadios relativamente tardíos.
- 9. VDR.**-Receptor de calcitriol, también conocido como receptor de vitamina D (VDR) y como NR1I1 (de sus siglas en inglés "*nuclear receptor subfamily 1, group 1, member 1*"), es un miembro de la familia de receptores nucleares de los factores de transcripción. Tras su unión con su ligando, la vitamina D, el receptor de calcitriol forma un heterodímero con el receptor X retinoide y se une al elemento de respuesta a hormonas (HRE) en el ADN, dando lugar a la expresión de determinados genes.
- 10. RXR.**- Receptor X retinoide (RXR) es un tipo de receptor nuclear que es activado por el ácido retinoico.

## **Resumen.**

La Vitamina D está asociada con las enfermedades autoinmunes. En Ecuador un país andino con exposición solar 12 meses al año, no se conoce los niveles de vitamina D, en sujetos sanos y enfermos con Esclerosis Múltiple. El presente estudio pretende establecer los niveles séricos de Vitamina D, en enfermos con EM, relacionarlos con la severidad y el comportamiento de la enfermedad, además de comprobar si existe niveles séricos bajos de Vitamina D en los sujetos enfermos con Esclerosis Múltiple comparándolos con la población general.

## **Metodología.**

Estudio de Casos y Controles. Se enrolaron 81 pacientes con Esclerosis Múltiple de la provincia de Pichincha. Para comparar los niveles de vitamina D con los de la población general se calculó una muestra de 50 sujetos (casos) y se seleccionó 50 sujetos sanos (controles), pareándolos según sexo, edad y color de piel. Se obtuvieron datos demográficos y clínicos así como una extracción de sangre venosa periférica para determinar los niveles séricos de vitamina D. Se estudió severidad de la enfermedad por escala de Kurtzke, número de recaídas, exposición solar, hábito tabáquico entre otros.

## **Resultados.**

El promedio de edad fue de  $M=39,19$   $SD$  11,45 años; el 74 % ( $n= 60$ ) fueron mujeres. El promedio sérico de Vitamina D en pacientes con EM fue de  $M=31,89$   $SD=12.3$  ng/ml y en los controles de  $M=30.31$   $SD= 8.0$  ng/ml,  $p\geq .05$ . Se encontró insuficiencia de vitamina D sérica en 42% ( $n=21$ ) de los casos y en 46% ( $n=23$ ) de los controles,  $p\geq .05$ . El promedio obtenido de la escala de Kurtzke fue de  $M=3,3$   $SD=2.3$  puntos. Cuando se valoró discapacidad por medio de la escala de Kurtzke. Se encontró que el promedio de pacientes con Kurtzke  $<3,5$  puntos fue de  $M= 33,19$  ng/ml. y con Kurtzke  $>3,5$  puntos de  $M=29,5$  ng/ml  $p\geq .05$ .

Cuando se calculó la relación existente entre los niveles óptimos de Vitamina D ( $> 40$  ng/ml) con un bajo grado de discapacidad, definiendo esta como la presencia de la Escala de Kurtzke,  $<3,5$  se encontró una asociación estadísticamente no significativa  $X^2(1, n=50) = 3.13$   $p \geq .05$ .

El promedio de recaídas fue de  $M=2,6$  recaídas  $SD=3,0$ . Se encontró que el promedio de Vitamina D en los pacientes con más de una recaída fue de  $M=31,0$  ng /ml y con menos de una recaída fue  $M=32,49$ ,  $p \geq .05$ .

Los pacientes con EM que se exponen más de dos horas al sol y tienen fototipo cutáneo tipo I, presentaron niveles séricos de vitamina D mayores a 30 ng/ml, con una asociación estadísticamente significativa  $p < .05$ .

La edad, el fototipo cutáneo, el hábito tabáquico, la exposición sol, explican el 34% de los niveles de suficiencia de vitamina D en la población estudiada.  $R^2 = .34$   $F(7,41) 03,02$ .

## **Conclusiones.**

- Los pacientes con EM y los controles sanos (pareados por género, edad y color de piel) no tienen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de vitamina D y además presentan deficiencia e insuficiencia (niveles entre 11 y 28 ng/ml) en iguales proporciones.
- Los niveles bajos de vitamina D en los pacientes con EM de este estudio, no se relacionan con el grado de discapacidad medida por la escala de Kurtzke.
- Los niveles bajos de vitamina D en los pacientes con EM de este estudio, no se relacionan con el número de recaídas.
- Los niveles suficientes de vitamina D están asociados a menor edad, fototipo cutáneo tipo I, el hábito tabáquico negativo y exposición solar más de dos horas,

## **Summary.**

Vitamin D is associated with autoimmune diseases. In Ecuador, an Andean country with 12 months a year of sun exposure, in healthy subjects and patients with multiple sclerosis vitamin D level is not known. The present study aims to establish the serum levels of vitamin D in patients with MS and relate to the severity and behavior of the disease and check for low serum levels of vitamin D in Multiple Sclerosis patients compared with the general population.

## **Methodology.**

A case-control study was designed in which 81 patients with Multiple Sclerosis were enrolled. To compare levels of vitamin D with the general population, a sample of 50 patients was calculated (cases) and 50 healthy subjects (controls), they were matching by gender, age and skin color. Demographic and clinical data as well as extraction of peripheral venous blood were collected to determine serum levels of vitamin D. Severity of the disease was studied by Kurtzke scale, number of relapses, sun exposure and smoking.

## **Results.**

Mean age was de  $M=39, 19$  SD 11, 45 years; 74% ( $n = 60$ ) were women. The average serum vitamin D in MS patients was  $M = 31.89$  SD = 12.3 ng / ml and controls  $M = 30.31$  SD = 8.0 ng / ml,  $p > .05$ .

Serum vitamin D insufficiency was found in 42% ( $n = 21$ ) of cases and in 46% ( $n = 23$ ) of the controls,  $p > .05$ .

The average obtained was Kurtzke scale of  $M = 3.3$  SD = 2.3 points. When disability was evaluated by Kurtzke scale, it was found that the average patient with Kurtzke <3.5 points was  $M = 33.19$  ng / ml. and Kurtzke > 3.5 points  $M = 29.5$  ng / ml  $p > .05$ .

When the relationship between optimal levels of vitamin D (> 40 ng / ml) with a low degree of disability, defining this as the presence of Scale Kurtzke, <3.5 is not calculating a statistically significant association  $X^2 (1, n = 50) = .3.13$   $p > .05$

Relapses average was  $M = 2.6$   $SD = 3.0$ . Relapse was found that average vitamin D in patients with more than one relapse It was  $M = 31.0$  ng / ml and less of a relapse was  $M = 32.49$ ,  $p > .05$

MS patients who are exposed more than two hours and have type I skin phototype presented serum vitamin D greater than 30 ng / ml in MS patients,  $p < .05$ .

Age, skin phototype, smoking, sun exposure, account for 34% of the levels of vitamin D sufficiency in the study population.  $R^2 = .34$   $F(7,41) 03.02$

### **Conclusions.**

- The MS patients who were matched by gender, age and skin color have similar levels (no statistically significant difference) with the general population.
- Patients with MS and low vitamin D have equal severity as measured by Kurtzke scale that patients with vitamin D sufficiency
- Patients with low levels of vitamin D have the same number of relapses in patients with vitamin D sufficiency
- The younger age, type I skin phototype, negative smoking and solar more than two hours exposure are associated sufficient levels of vitamin D.
- Both groups showed similar levels of Vitamin D deficiency; however insufficient vitamin D levels were found only in the group with MS (levels 11 to 28 ng / ml.)

## CAPITULO I

### 1.1- Introducción

La Esclerosis Múltiple (EM) es una de las enfermedades neurodegenerativas más incapacitantes del planeta afectando especialmente al grupo poblacional económicamente más activo ya que se presenta típicamente en los adultos de 20 a 45 años de edad. (Charles et al, 2013).

Se caracteriza inicialmente por la aparición de episodios fugaces de cualquier déficit neurológico inicialmente y casi siempre reversible, aunque es a menudo seguida de una fase de progresivo deterioro neurológico a medida que la enfermedad evoluciona en el tiempo. El interés en la EM ha aumentado en América Latina puesto que observaciones recientes apuntan a un aumento de la prevalencia de esta enfermedad, que por desconocimiento muchas veces no es diagnosticada. Uno de los temas más promisorios y que ha cobrado gran importancia en las líneas de investigación a nivel mundial es la exposición a la luz solar correlacionada con los niveles séricos de Vitamina D y el déficit de Vitamina D como factor de riesgo importante para EM, encontrando una explicación a las características epidemiológicas anteriormente descritas proponiendo una fisiopatología de tipo autoinmune.

En la zona ecuatorial no existen estudios que descarten o impliquen su deficiencia con el comportamiento y manifestaciones de la enfermedad. (Charles et al, 2013). El objetivo del presente trabajo es medir los niveles séricos de Vitamina D en los pacientes enfermos con EM ecuatorianos y determinar si existe relación entre los niveles de esta vitamina, con el comportamiento de la enfermedad. Para se realizó en primera instancia un estudio de tipo descriptivo, documentando los pacientes enfermos con EM y posteriormente comparar los casos documentados con controles sanos, para ver si existe un déficit de vitamina D en los pacientes con EM de Quito, siendo nuestro país una zona de alta radiación solar, donde se supone existe mayor luminosidad (<http://www.energia.org.ec>, 2013), niveles normales altos de Vitamina D y menor prevalencia e incidencia de EM.



## **1.2.- Justificación**

Numerosos estudios han creado la noción de que la insuficiencia de vitamina D contribuye de manera directa como factor de riesgo para el desarrollo de la EM influyendo inclusive en la severidad de la enfermedad y en la presentación de recaídas o recurrencias. La mayoría de estudios han sido realizados en Argentina. (Correale et al, 2010), Estados Unidos y Europa (Charles et al, 2013), regiones del planeta donde existe la presencia de cuatro estaciones con amplias variaciones en lo que se refiere a niveles de exposición a la luz solar y cantidad de radiación ultravioleta a lo largo del año. Al contrario son pocos los estudios realizados en la región andina acerca de este tema. Este proyecto trata de obtener información en un país como Ecuador, que posee altos niveles de radiación UVB todo el año (INHAMI y CONELEC, 2008), sin embargo no posee estudios que hayan descrito previamente niveles de vitamina D en pacientes con EM, y tampoco en la población general.

En vista que la EM es una enfermedad poco diagnosticada en nuestro país, la realización de una investigación que permita no solo determinar las características de los pacientes ya diagnosticados dentro de una de las principales ciudades del país, sino que también contribuya en el esclarecimiento de la presunta relación entre la enfermedad y las condiciones climáticas/geográficas del Ecuador, permitirá brindar una cantidad importante de información no solo de utilidad para el medio, sino que sería de gran provecho para la comunidad científica internacional. De este modo, nuestro estudio podría aportar para la comprensión de la EM en Ecuador, donde las características geográficas y meteorológicas de nuestro país, sugieren una entredicha normalidad de Vitamina D.

Al realizar la determinación sérica de Vitamina D en pacientes ecuatorianos con EM se podrá correlacionar su deficiencia con la actividad de la enfermedad o recaídas en comparación con controles sanos de la misma edad y mismas características; situación que tampoco ha sido explorada en nuestro país. Finalmente la falta de estudios en cuanto a niveles séricos de vitamina D en la región andina, en particular en el Ecuador hace interesante la realización de un estudio que no solo busque cuantificar su presencia dentro de una población de pacientes enfermos sino que busque compararla con los niveles séricos en sujetos sanos, con el objetivo de ver si la asociación protectora se repite en

nuestra población puesto que los niveles séricos de vitamina D están siendo cada vez más implicados no solo en el desarrollo de EM sino en otras patologías de origen autoinmune e inflamatorio donde la vitamina D parecería jugar un papel inmunomodulador reduciendo o retrasando su presentación.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEORICO**

### **2.1 Sobre la Esclerosis Múltiple (EM)**

La Esclerosis Múltiple (EM) es una de las enfermedad neurodegenerativas más incapacitantes del planeta afectando especialmente al grupo poblacional económicamente más activo ya que se presenta típicamente en los adultos de 20 a 45 años de edad (Charles et al, 2013). Representa una importante causa de incapacidad e interrupción de la vida laboral en adultos jóvenes del mundo occidental con una prevalencia estimada de a nivel mundial se estima que existen entre uno y 2,5 millones de personas que sufren de Esclerosis Múltiple, enfermedad degenerativa causada por una alteración del sistema inmunológico y que en Latinoamérica afecta a más de 30 mil personas. La información disponible indica que existen de 12 a 15 casos por cada 100 mil habitantes en la región e incluso en países del hemisferio norte se reporta una prevalencia de hasta 66 personas y una incidencia de 9,3 nuevos casos por cada 100 mil.

La causa de esta enfermedad es desconocida, pero parece implicar una combinación de susceptibilidad genética y un gatillo ambiental tradicionalmente descrito como la exposición al tabaco o ciertos tipos de virus como la mononucleosis infecciosa y el citomegalovirus. (Souberbielle et al. 2013)

### **2.2 La EM en América Latina**

El interés en la EM ha aumentado en América Latina puesto que observaciones recientes apuntan a un aumento de su prevalencia dentro de la región. La incidencia anual de EM en América Latina varía entre cifras de 0.3 a 1.9 casos por 100 mil habitantes al año. La prevalencia de la misma forma muestran gran variabilidad entre aproximadamente 1 a 25 por 100 mil habitantes (Freedman et al. 2013) al igual que otros países de la región Andina como Colombia, Perú y Venezuela (Carrá et al. 2011) presentar cifras de baja prevalencia comparadas a las de países meridionales de la región como lo son Argentina y Uruguay (Cristiano et al. 2013). Se cree también que limitaciones importantes como el acceso parcial a especialistas entrenados en el diagnóstico de la enfermedad, la falta de centros de derivación específicos y la estructura de los sistemas de salud de la región que no dan una cobertura importante para este tipo de enfermedades conlleva una subestimación de las verdaderas cifras de incidencia y prevalencia de EM dentro de la región andina. Un aspecto

interesante de las características poblacionales de la EM es los matrimonios mixtos entre amerindios, caucásicos y africanos lo que conlleva a una heterogeneidad mucho más marcada dentro de sus características genéticas. Se presume que esta compleja mezcla étnica incide directamente en la susceptibilidad genética para desarrollar EM.

En lo que concierne al Ecuador, la prevalencia calculada para las ciudades de Quito y Guayaquil es similar a las descritas en países vecinos como Colombia. También se ha encontrado baja prevalencia en las ciudades como Cuenca, y brotes aislados en provincias como Manabí y Loja. Según un estudio realizado por Abad et al. (2010) se pudieron identificar 150 pacientes con EM utilizando los criterios de Mc. Donald. En este estudio referencial se identificó una prevalencia de 5.3 por 100 mil habitantes para la ciudad de Quito.

Las prevalencias para las otras ciudades pequeñas del Ecuador fueron mucho más bajas, probablemente a causa de un mal registro. Cabe señalar que la mayoría de los pacientes estos aproximadamente el 75% de los pacientes fueron registrados en hospitales privados y únicamente el 15% en hospitales públicos lo que sugiere el poco conocimiento de esta patología en los hospitales del estado (Abad et al 2010).

### **2.3 Sobre la Vitamina D**

La deficiencia de vitamina D es un problema de salud global. Con todos los avances médicos del siglo, la deficiencia de vitamina D es todavía una epidemia. Más de mil millones de personas en todo el mundo tienen insuficiencia o deficiencia de vitamina D. (Hollick et al. 2008). Sin embargo, ninguna organización de salud u otro organismo a nivel regional ha declarado esta situación como emergencia, para advertir a la población sobre la necesidad de obtener suficiencia de niveles de vitamina D en sangre.

Existen informes de la deficiencia de vitamina D, en países tan diversos como Inglaterra (Hyppönen et al 2007), Austria (Koenig J et al 2000), Alemania (Hintzpeter B et al 2008), Finlandia (Lamberg-Allardt CJ, et al 2001) e India (Sachan A, et al 2005) indicando el alcance de la pandemia. Incluso en países tan expuestos a la radiación solar como Australia, presentaron informes que indican que 30 a 50 % de los niños son deficientes (Hollick et al 2008). Los grupos de edad incluidos en los estudios de estos países son adultos jóvenes y personas mayores con grandes variaciones del nivel de Vitamina D según el país de residencia (McKenna MJ et al 1992). Incluso cuando la fortificación de

vitamina D de la leche ha estado en vigor desde hace muchas décadas, como en los EE.UU. y Canadá; todavía existen deficiencias relacionadas con la temporada, la latitud de residencia, edad y género (Calvo MS, et al 2004).

Su metabolismo es algo complejo, tiene un origen a nivel del colesterol cutáneo, el cual inicialmente experimenta su primera transformación de 7-dehidrocolesterol en colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>) en la piel a través de la acción de la radiación ultravioleta o después de la ingesta oral directa de la vitamina D<sub>3</sub> (o D<sub>2</sub>), hay una primera hidroxilación en el hígado catalizada por varias coenzimas D-25-hidroxilasa, la más importante es CYP2R1, de esto resulta en 25-OH-D, por esto es el metabolito medido en la sangre para evaluar el estado de la vitamina D conocido también como calcifediol o calcidiol. (Souberbielle et al.2013) La segunda hidroxilación tiene lugar en el túbulo proximal del riñón, catalizada por la enzima 1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1), resultando en 1,25-OH-2D (calcitriol), que es el metabolito activo de la vitamina D. La baja ingesta de calcio y las concentraciones de hormona paratiroidea (PTH) estimulan esta hidroxilación renal y aumentan el nivel de calcitriol en la sangre, mientras que (FGF23) y un alto nivel de calcitriol, tienen el efecto contrario. (Souberbielle et al.2013). Además, la vitamina D 24-hidroxilasa, otra enzima localizada en el túbulo renal y codificada por el gen CYP24A1, también es capaz de inducir una vía de inactivación de la enzima para los metabolitos de la vitamina D. Esta está estrechamente regulada por FGF23 y el nivel de calcitriol. (Charles et al, 2013)

La vitamina D y sus diversos metabolitos, incluyendo el calcitriol, se transportan en la sangre por la Proteína de unión a D-(DBP) que es una globulina del suero producido principalmente en el hígado y en menor medida por albúmina. El calcitriol entonces se disocia al entrar en una célula diana y primero se une a un receptor específico de la vitamina D (VDR) en el citoplasma Entonces, este complejo entra en el núcleo y forma un heterodímero por unión a un receptor nuclear, que es el receptor X retinoide (RXR). El heterodímero calcitriol-RXR finalmente se une a los elementos tridimensionales de la vitamina D, que constituyen una secuencia específica de ADN en la región promotora de los genes diana, estos a su vez son regulados por activación o supresión de genes de transcripción y por la síntesis de proteínas como por ejemplo, citoquinas, etc.

Hay una multiplicidad de acciones de vitamina D en casi todas las células del organismo, incluyendo las células de inmunidad: macrófagos, monocitos, células dendríticas y

linfocitos T. Células que a su vez tienen receptores de vitamina D o VDRs que también están presentes en todos los tipos de células del sistema nervioso central (SNC), es decir, neuronas, oligodendrocitos, astrocitos y células gliales. En las células antes mencionadas se expresa la enzima CYP27B1 que es capaz de transformar in situ el 25-OH-D circulante en calcitriol lo que constituye el primer indicio de las posibilidades de acción de la vitamina D en EM. (Charles et al, 2013).

## **2.4 Efectos Inmunomoduladores de la Vitamina D**

La vitamina D tiene un importante papel en la inmunomodulación, como agente antiinflamatorio e incluso neuroprotector, por lo que se ha considerado como ente implicado y factor de riesgo para enfermedades Autoinmunes como la EM. Además se han descrito numerosos efectos extra óseos como: protección para el sistema cardiovascular (Insuficiencia cardíaca e Hipertensión), antiproliferativa (en ciertos tipos de cáncer), inmunológicos (inmunidad innata) y anti-inflamatorio e inmunomodulador (inmunidad adaptativa), un efecto que podría estar implicado en otras enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1, enfermedad de Crohn y artritis reumatoide. (Holick, 2004)

La vitamina D tiene un papel inmunomodulador general y efectos antiinflamatorios no sólo por la reducción de Th1, Th17, la proliferación de las células B y las citoquinas proinflamatorias, sino también por promover el fenotipo Th2, la actividad Treg y citoquinas antiinflamatorias. Se ha sugerido que la insuficiencia de vitamina D en el útero y específicamente durante la infancia puede afectar la expresión de HLA-DRB1 en el timo, permitiendo que las células T autorreactivas escapen de eliminación del timo (Ramagopalan, et al 2009).

La producción local de 1,25(OH) 2D estimula la diferenciación de monocitos-macrófagos, células presentadoras de antígenos, células dendríticas y linfocitos, por lo que se le atribuye una acción en el control de infecciones. La aparición de infecciones recurrentes se asocia a deficiencia de vitamina D. Se ha visto además que existe relación entre los niveles de 1,25(OH) 2D y/o los polimorfismos del VDR y la respuesta inmune innata y adaptativa a las infecciones.

El mecanismo por el cual la vitamina D estimula la diferenciación y actividad de monocitos y macrófagos podría explicarse a través de la inducción de p21 y C/EBP $\beta$ . El

p21 es un inhibidor dependiente de ciclina-cinasa que produce inhibición del crecimiento en células tumorales y estimula la diferenciación de monocitos a macrófagos. El C/EBP $\beta$  es un factor de transcripción crítico para la actividad antibacteriana, antiviral y antitumoral macrofágica y, además, inhibe la síntesis de IL12, que, a su vez, potencia la respuesta inmune de los linfocitos T-helper 1 (Th1) inflamatorios in vivo (Gorgoni B, et al 2002). La administración de 1,25(OH) 2D inhibe la proliferación y disminuye la producción de citoquinas inflamatorias IL-2, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  por células Th1. Por otra parte, aumenta la producción de TGF- $\beta$ 1, que inhibe la diferenciación de células Th0 a Th1. (Boonstra A, et al 2001)

En contraposición a su efecto estimulatorio sobre el sistema monocito-macrofágico, la vitamina D es un agente inmunosupresor linfocitario. A este nivel produce una reducción en los niveles de IL y promueve el desarrollo de linfocitos T-helper 2 supresores Th2 (Penna G, et al 2000) conservando a las células dendríticas (presentadoras de antígenos) en estado de inmadurez, lo que permite inmunotolerancia. La combinación de estos efectos favorece la proliferación de linfocitos T supresores y la liberación de citoquinas por parte de éstos.

## **2.5 Vitamina D y la EM**

Recientemente muchas investigaciones se han dirigido a la búsqueda de otros factores ambientales implicados en el desarrollo de la enfermedad y sus manifestaciones. Se ha visto que algunos genes del antígeno leucocitario humano (concretamente el alelo HLA-DRB1\*1501) intervienen en el desarrollo de estos genes. Se ha visto que la vitamina D juega un papel fundamental en el desarrollo de una respuesta inmunomoduladora adecuada, concretamente en el reconocimiento de los antígenos del sistema nervioso central (Sintov, Ammon et al, 2014). Uno de los temas más promisorios y que ha cobrado gran importancia en las líneas de investigación a nivel mundial es la exposición a la luz solar correlacionada con los niveles séricos de Vitamina D, que busca encontrar una explicación a las características epidemiológicas anteriormente descritas proponiendo una fisiopatología de tipo autoinmune auto sostenible. En cuanto a la deficiencia hay pruebas claras de que la mayoría de los pacientes con EM presentan deficiencia de vitamina D a largo plazo, ya que se caracterizan por poseer una baja masa ósea y las altas tasas de fractura. El nivel de 25-hidroxicolecalciferol en suero, es el mejor indicador de la nutrición cercano término vitamina D, fue menos que adecuado en el 60 a 69 % de los pacientes con

EM testeados (Nieves et al. 1994). Además, los pacientes con EM habían reducido significativamente la masa ósea en comparación con sus pares sanos misma edad y género (Nieves et al. 1994).

Aunque no se ha definido exactamente la prevalencia de deficiencia e insuficiencia de vitamina D en los pacientes con EM, existen otras observaciones que hablan al respecto. Por ejemplo en un estudio realizado en mujeres con osteoporosis y EM se encontró que 70% tenía niveles inadecuados de vitamina D, definidos en este estudio como de menos de 50 nmol/l (Dawson-Hughes et al. 2005). Observaciones más recientes han identificado que el porcentaje de deficiencia e insuficiencia de vitamina D en pacientes con EM podría hallarse entre 48 y 64%, sin embargo las observaciones realizadas hasta el momento carecen del poder estadístico necesario para ser extrapoladas a la población global de enfermos con EM e ignoran factores ambientales que podrían influir en los niveles de vitamina D, especialmente: tipo de piel, localización geográfica y variaciones estacionales de exposición a luz UV (BM Van Amerongen et al. 2004).

Se ha visto en varias observaciones que los niveles séricos de vitamina D y/o la exposición a la luz solar actúan como factores protectores contra el desarrollo de la EM. Algunas observaciones hechas al respecto mencionan los siguientes hallazgos:

Mujeres que han tomado por lo menos 400 IU de vitamina D como suplemento cada día han presentado un 40% de reducción en el riesgo de desarrollar EM comparado con mujeres que no han tomado los suplementos. (Freedman et al, 2013)

Personas de raza blanca no hispánicas con un nivel en la sangre de 100 nmol de 25(OH) D [25-deoxicalciferol] o más alto presentaron un 50% de reducción en el riesgo de desarrollar EM comparado con aquellos que tuvieron niveles menores de 75 nmol/l. (Munger, Levin, Hollis, Howard, 2006)

En un estudio pequeño realizado en Suecia, las mujeres que tenían niveles más altos de vitamina D (más de 75mg/ml) durante el primer trimestre de embarazo tuvieron un menor riesgo de desarrollar más tarde EM que las mujeres con niveles más bajos. Los niveles de vitamina D durante el embarazo no afectaron la posibilidad de sus hijos de desarrollar más adelante EM. (Munger et al. 2004) Sin embargo un estudio poblacional reciente realizado en ese mismo país utilizando 459 casos incidentes de EM pareados contra 663 controles no fue capaz de demostrar que un bajo nivel de Vitamina D al nacimiento fuese un factor de



riesgo para desarrollar EM, lo que prueba que existe aún la necesidad de demostrar esta aseveración de forma adecuada. (Ueda et al, 2014)

Estudios en Australia, Finlandia y Alemania (Holmoy et al 2009), reportaron niveles bajos de vitamina D durante las exacerbaciones. Sin embargo, estos estudios no tomaron en consideración que las personas con una esclerosis múltiple no controlada presentado recaídas tienden a permanecer recluidas por lo tanto tendrían niveles bajos de vitamina D. (Munger et al, 2004)

Un estudio realizado en una cohorte italiana de 131 pacientes con EM demostró la presencia de una asociación inversa entre la exposición solar frecuente y la severidad de la EM (OR – 0.26 IC 95%). En este estudio se encontró también que la exposición solar frecuente estaba relacionada directamente con las altas concentraciones de vitamina D. (Mandia et al, 2014)

Varios estudios con un número bajo de participantes o sin grupos de control han publicado una gama variada de resultados sobre los beneficios de añadir vitamina D a un tratamiento modificador de la enfermedad. Algunos han reportado un número menor de recaídas (Munger et al, 2004; The National Health and Nutrition Examination Survey, 2009) mientras que otros han reportado que no ha habido cambios ya sea en el número de recaídas o en las resonancias magnéticas (Smolders et al, 2008).

Otros estudios han mencionado una relación posible entre la vitamina D y problemas cognitivos en relación con la progresión de la enfermedad: Por ejemplo los niveles de la Vitamina D se han asociado inversamente a la actividad de la EM en el cerebro detectada a través de resonancia magnética. (Munger, et al 2004)

Los niveles altos de la vitamina D también se han asociado a un riesgo disminuido para recaídas (exacerbaciones o ataques) y discapacidad severa mientras que niveles bajos se han asociado a deterioro de la persona. Existen varias líneas de evidencia epidemiológica y clínica que sugieren que específicamente en los países que poseen cuatro estaciones, los niveles reducidos de vitamina D, producen una desregulación convirtiéndose en un factor de riesgo para el desarrollo de EM, por otro lado, los niveles de Vitamina D están inversamente asociados con la actividad de la enfermedad y su progresión. Por primera

vez, en 1960, se informó de una relación inversa entre la exposición a la luz solar y la prevalencia de EM. La relación entre radiación solar y menor riesgo de EM también se demostró en Suiza, basados en la relación inversamente proporcional a la altitud, que también constituye un marcador de mayor intensidad de luz solar. Por el hecho de que países europeos disponen de 4 estaciones y no se exponen a radiación solar todo el año al contrario que nuestro país, se ha planteado varias veces la posibilidad de que los niveles de vitamina D bajos sean una de las causas detrás de la alta incidencia y prevalencia de EM. Esta aseveración sin embargo es sujeto de controversia puesto que la intervención de la latitud como factor protector en la EM es muy compleja. Por ejemplo, en una meta-análisis de 26 estudios que buscaron observar el papel del tabaquismo frente al desarrollo de la EM se vio un incremento del riesgo de EM en fumadores con un decremento en la latitud específicamente en mujeres. Se necesitan más estudios que analicen el impacto de otras variables ínter recurrente antes de poder definir claramente el impacto de la latitud frente a la EM. (O’Gorman y Broadley, 2014)

El mes de nacimiento y el estado de la vitamina D de la madre durante el embarazo puede también tener un impacto en el riesgo de MS en los hijos cuando estos llegan a adultez. El riesgo de MS es menor para personas nacidos en otoño (especialmente en noviembre) y superior para los nacidos en la primavera (sobre todo en mayo) en el hemisferio norte. (Fragoso et al. 2012) De acuerdo con esta hipótesis, podría ser consistente que en los países más soleados, es decir, con menos contraste entre las estaciones del año, no haya diferencia estacional en el mes de nacimiento se ha observado en el riesgo de EM. (Givon et al, 2012) Entonces La influencia del mes de nacimiento podría existir para diferentes enfermedades relacionadas con la inmunidad, incluyendo EM. (Dobson et al, 2009) En Resumen la falta de exposición al sol, el estado de la vitamina D de la madre de una persona que posteriormente se enfermará de EM durante el embarazo, el mes de nacimiento, la exposición al sol durante la exposición de los niños y el sol y el estado de la vitamina D en la adultez temprana puede influir en el riesgo de EM.

Pese a que algunos estudios han demostrado que la vitamina D tiene efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores dentro de las manifestaciones de la EM (García Merino et al, 2010; Laplaud et al, 2012) otras observaciones no han sido capaces de demostrar una correlación significativa en su impacto dentro de la actividad de la enfermedad. (Abad et al. 2012) Por ejemplo un estudio a doble ciego que duró 96 semanas encontró que el suplementar con 20,000 IU de vitamina D semanal no tuvo beneficio en

marcadores relacionados al comportamiento de la EM como la tasa anual de recaídas, el EDSS, el compuesto funcional de la EM (MSFC), la fuerza y la fatiga. (Dobson et al, 2009)

## **2.6 Vitamina D y su importancia dentro la presencia de EM en Ecuador.**

Se sabe que la baja exposición a la luz solar es un factor de riesgo para EM. El Ecuador es un país que se encuentra en latitud cero y que no tiene variaciones representativas en horas efectivas de luz solar al día, con un promedio de 12 horas diarias de sol y con una energía potencial anual: 2000 horas de radiación solar al año (<http://www.energia.org.ec>, 2013) se reportan cada vez más casos de EM. La ubicación geográfica del Ecuador, lo convierte en un país privilegiado en lo que a recurso solar se refiere. Esto se debe a que el ángulo de incidencia de la luz solar, es perpendicular a nuestra superficie durante todo el año, situación que no ocurre en otros sitios del planeta. (<http://www.energia.org.ec>, 2013) por lo que teóricamente sería una zona protegida para incidencia y prevalencia de enfermedades autoinmunes.

Quito, la capital del país, localizada en el norte de la región andina, a 2.816 m de altitud, dispone de una alta luminosidad que dura entre 10 a 15 horas. Cuenca, otra ciudad andina, localizada en el sur del Ecuador a 2.800 m de altitud dispone de una luminosidad similar a la de la ciudad capital. Guayaquil, la principal ciudad de la costa ecuatoriana, localizada a 5m sobre el nivel del mar, con 2.206.213 habitantes, con temperaturas promedio de 25 °C e índices de luminosidad que fluctúan entre 8 a 12 horas. En su composición racial, predominan mestizos o hispanos, caucásicos y las minorías están conformadas por afros ecuatorianos y menos indígenas que en la serranía. (INHAMI y CONELEC, 2008).

La composición étnica de estas dos ciudades andinas es en su mayoría mestizos, pocos caucásicos y una minoría compuesta por indígenas y afro ecuatorianos por lo que el factor genético explicado por diferentes haplotipos en población latinoamericana es un factor muy importante. Los alelos asociados con EM en Latinoamérica incluyen el *DRB1\*1501* (odds ratio 2.6), *DQB1\*0602* (OR 2.5), *DRB1\*15* (OR 2.3), *DQB1\*06* (OR 2.2) y el *DRB1\*1503* (OR 2.2). (Holick, 2004)

El hallazgo de uno o más de estos alelos de riesgo, varía entre las diferentes poblaciones de Latinoamérica. El alelo *DRB1\*1501*, es encontrado en ancestros caucásicos de Argentina y Uruguay. Los Africano Brasileños con EM comparten algunos alelos europeos

asociados con susceptibilidad para EM con Caucásicos y Caribeño Africanos, como es el caso de *DQB1\*0602*, pero no comparten el alelo *DRB\*06* que es común en brasileños de piel blanca, afroamericanos y europeos (Holick, 2004). *DRB1\*1503* encontrado descendientes de africanos, incluyendo afroamericanos (Charles P et al, 2013) y afro-caribeños. (Calvo et al. 2014)

En genética, varios antígenos leucocitarios humanos específicamente HLA-DRB1 \* 1501 podrían favorecer la enfermedad mientras que otros podrían tener un efecto protector. Algunos de los genes implicados en el metabolismo de la vitamina D (por ejemplo, CYP27B1) también desempeñan un papel significativo.

Se cree que en Ecuador es un área de baja prevalencia e incidencia para EM y esto se ha demostrado según estudios de prevalencia e incidencia realizados anteriormente. Sin embargo existe moderada incidencia y cada año especialistas entrenados reconocen por clínica y diagnostican nuevos casos en nuestro país, a pesar de ser como antes se ha mencionado una zona prodigiosa en cuanto a heliofonía se refiere. Por último, los efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios de la vitamina D parecen ser más marcados en las mujeres que en los hombres independientemente del país en pacientes mujeres con EM, así como en sujetos sanos, tal vez debido a los efectos sinérgicos entre calcitriol y estradiol 17- $\beta$ . (Correale et al, 2010)

Sin embargo para obtener datos reales se deben realizar más estudios de prevalencia en poblaciones no estudiadas anteriormente y en áreas en que la enfermedad es rara o inexistente. No hay duda de que el riesgo de EM está determinado por genes, pero al parecer en Ecuador hay importantes factores que estarían involucrados sin descartar la posibilidad de que los infra niveles de Vitamina D también sean un fenómeno causal en la patogénesis de la EM en pacientes ecuatorianos aun teniendo varias horas de luminosidad al día. Finalmente hay que reconocer que hasta el momento no se conoce casi nada acerca de los valores de vitamina D dentro de la población sana del Ecuador y mucho menos dentro de los pacientes con EM. Se desconoce también de su interacción dentro de nuestro país, ya que se supone que al ser una zona que se encuentra a nivel ecuatorial los niveles séricos deberían ser altos y por lo tanto explicaría una baja prevalencia de EM en nuestra región.

## **2.7 Vitamina D y Fototipo Cutáneo de Fitzpatrick**

Fitzpatrick planteó esta clasificación en 1975 basándose en una entrevista personal explorando la historia de quemadura solar y la capacidad de broncearse, buscando una aproximación estimada de la tolerancia cutánea a la luz UV. La evaluación del fototipo mediante la escala de Fitzpatrick no se basa solo en el color de la piel sino en la sensibilidad cutánea a la luz. Dadas las propiedades de melanina como un filtro UVR natural, no es sorprendente que la cantidad de melanina está inversamente relacionada con la producción de vitamina D en la piel. (Holick et al., 2003). Por lo tanto las personas de piel oscura (por ejemplo, fototipo V/VI) requieren por lo menos 10 veces más exposición a la luz solar que los que tienen la piel clara (por ejemplo, fototipo II/III) para producir el misma cantidad de vitamina D en su piel.

## **2.8 Suplementación y Nivelación de Vitamina D en Sangre.**

Para evaluar la respuesta terapéutica de la vitamina D en pacientes con EM, se han realizado algunos ensayos clínicos dobles ciegos controlados y aleatorizados, la mayoría no fueron diseñados para evaluar la respuesta terapéutica de la vitamina D. Un estudio clínico realizado en Finlandia (Soilu-Hänninen M, et al, 2012) 66 pacientes con EMRR comparó un grupo con 34 pacientes utilizando 20.000 UI / semana de la vitamina D y el interferón beta-1b (IFN $\beta$ -1b) a otro grupo de 32 pacientes que utilizan IFN $\beta$  -1b solamente. En ese estudio, los resultados primarios incluyeron aspectos de tolerabilidad y seguridad, y el número de nuevas lesiones y lesiones que mejoraron en la RM con gadolinio. Los autores observaron que el grupo tratado mostró menos lesiones nuevas en T2, pero no hubo diferencias significativas en los parámetros clínicos entre los dos grupos después de 12 meses. Sin embargo, hubo una reducción significativa en el número de lesiones que mejoraron en la RM con gadolinio en el grupo de vitamina D.

Existe otro estudio, realizado en Noruega (Kampman et al 2012), que comparó la densidad mineral ósea, la frecuencia de recaída, progresión de la enfermedad y las medidas de la función motora entre 35 pacientes con EM en el cual se administraron 20.000 UI de colecalciferol por semana asociada con 500 mg/día de calcio y un grupo control de 33 pacientes con MS utilizando 500 mg / día de calcio sólo para dos años. Los pacientes de ambos grupos habían estado usando previamente inmunomodulador (interferón beta o acetato de glatiramer) durante un período similar de tiempo. No hubo diferencias en la tasa de recaída anual y los cambios en la capacidad funcional medida por EDSS, pero si se observó entre los dos grupos, que los niveles de vitamina D oscilaron entre 24,72 ng/ml en

el grupo de placebo a 49,26 ng/ml en el grupo de vitamina D.

Un estudio de fase II se desarrolló en Irán (Shaygannejad V, et al, 2012) comparó 25 pacientes con EMRR recibir la forma activa de la vitamina D (calcitriol) a una dosis de 0,25 mg/día con los pacientes que recibieron placebo. Ambos grupos utilizaron inmunomoduladores convencionales. No hubo diferencia en la EDSS entre el calcitriol y grupos placebo después de 12 meses de seguimiento. Cabe señalar en ese estudio el pequeño tamaño de la muestra y el criterio de inclusión de suero de 25-hidroxivitamina D nivel de; 40 ng/ml. Un estudio aleatorizado en Australia (Stein MS et al 2012) comparó 11 pacientes con EMRR tratados con vitamina D2 en una dosis de 6.000 UI dos veces al día, además de una dosis baja diaria (1.000 UI) con 12 pacientes que recibieron el / día dosis de tan solo 1.000 UI El índice de la actividad inflamatoria en la RM se comparó entre la dosis alta y los grupos de dosis baja. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos. Por último, un meta-análisis de los estudios citados anteriormente (James E et al, 2013) no detectó ninguna diferencia en el número de recaídas entre el grupos.

Las razones para estos resultados heterogéneos siguen sin estar claras. Generalmente, el exceso en cuanto a la suplementación puede resultar en hipercalcemia como lo describió Marcus JF en el 2012. Sin embargo, a diferencia de la suplementación con altas dosis de calcitriol, el tratamiento de pacientes con EM con incluso dosis muy altas de colecalciferol o ergocalciferol se demostró repetidamente para ser seguro (Kampman MT et al, 2012) barato y conveniente para llevar a cabo. Por lo tanto, es intrigante hipótesis de que el aumento de los niveles séricos VD sería una opción para prevenir y tratar la EM. En los pacientes con VD inadecuada, los niveles deben ser planteados al menos sobre 40 ng/ml, ya que son sujetos con exposición solar inadecuada y/o suplementación VD insuficiente. Como regla general es necesario saber que complementar con 1 µg (40 UI) de colecalciferol aumentaría los niveles de 25 (OH) VD a 1 ng/ml (2,5 nmol / l). (Dörr et al, 2013) En base a lo antes expuesto, se puede evidenciar que no existe un consenso, sobre que dosis exacta usar como suplementación en pacientes con EM; pese a esto, esta globalmente aceptado una dosis entre 1.000 y 4.000 UI/día dependiendo de la persona, pero en promedio 2.000 UI/día. (Bischoff-Ferrari et al. 2009)

## **CAPITULO III: OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN PROPUESTA**

**3.1 Planteamiento del Problema:** Se conoce de estudios en países Europeos de 4 estaciones, que el déficit de Vitamina D tiene relación directa en la severidad y el comportamiento de la Esclerosis Múltiple.

En Ecuador un país andino en el que disfrutamos de exposición solar los doce meses del año, en el cual la exposición a la radiación solar no sería un factor de riesgo para niveles insuficientes o deficientes de vitamina D (Calcidiol), no se conoce si existe déficit de esta vitamina y tampoco si este déficit está asociado a la presencia de enfermedad y recaídas en el curso de la enfermedad.

### **3.2 Objetivo Principal:**

Establecer cuáles son los niveles séricos de Vitamina D en los pacientes con Esclerosis Múltiple (EM) y su relación con la severidad y el comportamiento de la enfermedad en pacientes diagnosticados y en seguimiento en dos centros de referencia (Hospital Metropolitano de Quito y el Hospital Carlos Andrade Marín) de la provincia de Pichincha durante, el periodo de un año (octubre 2013 a octubre 2014), para luego compararlos con individuos sanos pareados por sexo, edad y color de piel.

### **3.3 Objetivos Secundarios:**

- Establecer si existe relación entre la insuficiencia o deficiencia de la vitamina D (Calcidiol) y el número de recaídas.
- Determinar si existe relación entre los niveles de esta vitamina y la severidad de la enfermedad por medio de la Escala de Kurtzke.
- Identificar factores de riesgo que asociados podrían actuar sinérgicamente, en los niveles de Vitamina D (Calcidiol), en la población estudiada.

### **3.4. Hipótesis**

En relación a lo anteriormente expuesto se plantean las siguientes hipótesis:

- Los pacientes enfermos con Esclerosis múltiple tienen niveles más bajos de vitamina D en comparación con individuos sanos.
- Los pacientes con Esclerosis Múltiple y niveles Séricos insuficientes o deficientes de vitamina D (Calcidiol) tienen mayor escala de severidad dada por la escala de Kurtzke así como también mayor número de recaídas de la enfermedad.



## CAPITULO IV

### 4.1 Metodología

Se seleccionó de forma aleatoria 50 pacientes del total de 81 pacientes con EM para la toma de muestras de vitamina D. A su vez se realizó una selección de 50 personas sanas de la población general como controles cada uno de los pacientes pareándolos por sexo edad y color de piel.

Se extrajeron aproximadamente 5 cc de sangre para la medición de vitamina D, la misma que fue preservada en tubos de cristal con separador de suero. Algunas muestras fueron almacenadas en tubos con separador de plasma (heparina), metodología también válida para el proceso. A continuación las muestras fueron refrigeradas para ser transportadas al laboratorio clínico del Hospital Metropolitano de Quito donde estas serían procesadas.

El proceso de cada muestra consiste en primer lugar centrifugar el contenido de cada tubo para separar el suero de los elementos formes para su análisis. Después se congela dicho contenido para ser procesadas en lote de 25 muestras. Una vez reunidas las 25 muestras estas son enviadas a proceso en la maquina Elicsys de la casa comercial Roche utilizando reactivo Cobas para la determinación de vitamina de D. El método de proceso de este reactivo es de electroquimilomuniscencia (ECLIA) y los resultados obtenidos se encuentran expresados en ng/ml.

Se clasificó a los pacientes del grupo de estudio utilizando cartillas con los seis fototipos cutáneos que establece la escala de Fitzpatrick ampliamente utilizada para categorizar la piel de acuerdo al nivel de pigmentación que va desde el fototipo I (piel blanca) hasta el fototipo VI (piel negra). La importancia de poder registrar esta variable en este estudio es que el color de la piel es una forma indirecta de obtener información de los factores genéticos, niveles de exposición al sol, la edad incluso las características hormonales es decir niveles de vitamina D.

## **4.2 Universo de Estudio y Obtención de la Muestra.**

Se utilizó una base de datos realizada con los casos captados desde Octubre del 2013 hasta Octubre del 2014 diagnosticados y en seguimiento en el Hospital Metropolitano de Quito y en el Hospital Carlos Andrade Marín. Es en estas dos instituciones donde se registran la mayoría de casos dado que se tratan de centros de referencia para diagnóstico y tratamiento de EM a nivel de la Provincia de Pichincha. La baja prevalencia de EM en el país, permite trabajar con un bajo número de pacientes, esto también puede ser producto de un mal registro de la verdadera magnitud de esta enfermedad. También el acceso parcial a pocos especialistas capacitados en EM y la información registrada exclusivamente en consulta privada y/o estatal conlleva a una dificultad para poder evaluar adecuadamente todos los casos.

Existe un estudio previo de EM en Ecuador, donde se identificó a 159 pacientes, donde se utilizó el método de captura y recaptura en las ciudades como Quito, Guayaquil y Cuenca (Abad et al, 2010).

En la base de datos utilizada para el presente trabajo se obtuvo 81 pacientes con EM que cumplieran criterios de Mc Donald modificados solo a nivel de la ciudad de Quito utilizándose muestreo aleatorio por conveniencia de la población accesible.

Para definir el tamaño de la muestra necesario para poder realizar una comparación estadísticamente significativa entre los pacientes enfermos con esclerosis múltiple e individuos de la población general, se realizó un cálculo estándar del tamaño de muestra en base a los datos conocidos acerca de la prevalencia de la deficiencia de vitamina D en individuos de la población general y pacientes enfermos con EM.

Vale la pena mencionar que el lote de reactivo de vitamina D sirve para aproximadamente 100 pruebas y el universo encontrado desde Octubre del 2013 a Octubre del 2014 fue un estimado de 81 pacientes, por lo que fue suficiente un lote de reactivo para la muestra calculada de 50 pacientes a los cuales se les buscó 50 controles.

La siguiente tabla demuestra los parámetros analizados y los resultados obtenidos.

**TABLA 1: Demostración del Método utilizado para el  
Cálculo de la muestra.**

<b>Variable</b>	<b>Valor</b>
Frecuencia de deficiencia de Vitamina D entre los pacientes con EM (Dawson-Hughes et al. 2005).	0,60
Frecuencia de la deficiencia de Vitamina D en la población general (Hollick et al 2008).	0,32
Odds ratio a detectar	2,00
Intervalo de confianza seleccionado	0,95
Potencia de la observación	0,80
Número de controles por caso	1
p1	0,60
p2	0,32
OR	2,00

Tamaño mínimo de la muestra	
Casos	49
Controles	49

Dado que el lote de reactivo estaba calculado para 100 muestras, se decide finalmente utilizar 50 casos y 50 controles utilizando una metodología de aleatorización a conveniencia. Los casos fueron seleccionados al azar por medio de un generador aleatorio de números del programa SPSS Statics.

#### 4.3 Cuadro de Operacionalización de Variables.

Variable	Tipo de Variable	Definición	Tipo de Indicador	Fuentes	Escala	Medida Estadística
Niveles de Vitamina D	Variable independiente	Dosificación sérica de vitamina D medida con el test de Elcsys de Vitamina D que mide tanto D2 como D3 utilizando el kit de laboratorio mediante EQL de Roche	Cuantitativa	Recolección de muestras sanguíneas realizada a cada uno de los casos durante la realización del estudio	mg/dl	Promedio  Rangos  Desviación Estándar

Años de diagnóstico o de Esclerosis Múltiple	Variable de control	Diagnóstico de EM a partir del año de diagnóstico	Cualitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	Número de años	Promedio
Diagnóstico de Esclerosis múltiple	Variable de control	Presencia de un caso definido de esclerosis múltiple que cumple con los criterios diagnósticos de McDonald (Revisión 2010)	Cualitativa dicotómica	Revisión de la historia clínica de cada uno de los casos Criterios de McDonald	Cumple = 1 No Cumple=2	Porcentaje
Tipo de esclerosis múltiple	Variable dependiente	Subtipo de caso de EM de acuerdo con los criterios de diagnósticos de McDonald (Revisión 2010)	Cualitativa	Revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	RR = 1 SP = 2 PP = 3 PR = 4	Porcentaje Promedio

Severidad de la enfermedad	Variable dependiente	Cuantificación del grado de discapacidad de cada uno de los casos medido durante la realización del estudio realizando la escala de discapacidad expandida (EDSS)de Kurtzke durante la realización del estudio	Cuantitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos. Escala de Kurtzke	Discapacidad 1= No discapacidad 2= mínima 3= moderada 4=relativamente severa 5= afecta rutina diaria 6=asistencia para trabajar 7= silla de ruedas 8=cama 9=confinado a cama	Promedio Porcentaje Rangos Correlación
Número de recaídas	Variable dependiente		Cuantitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	Número de recaídas	Promedio Porcentaje Rangos Correlación

Lugar de Nacimiento	Variable nominal	Provincia	Cualitativa	Provincia del Ecuador de donde es originario el paciente	0=Bolívar 1=Pichincha 2=Guayas 3=Chimborazo 4=Tungurahua 5=Imbabura 6=Manabí 7= Carchi 8= Loja 9= Sto. Domingo de los Tsáchilas	
Edad	Variable moderadora	Años	Cuantitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	Número de años	Promedio Porcentaje Rangos Correlación Regresión lineal
Género	Variable moderadora	Tipo de Genero biológico de cada uno de los casos (Masculino, Femenino)	Cualitativa dicotómica	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	F =0 M=1	Porcentaje Regresión lineal

Fecha de nacimiento	Variable moderadora	Fecha de nacimiento (DD/MM/AA)	Cualitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	DD/MM/AA	Promedio
Consumo de tabaco	Variable moderadora	Cuantificación del consumo de cigarrillos en años/cajetilla	Cuantitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos		Porcentaje

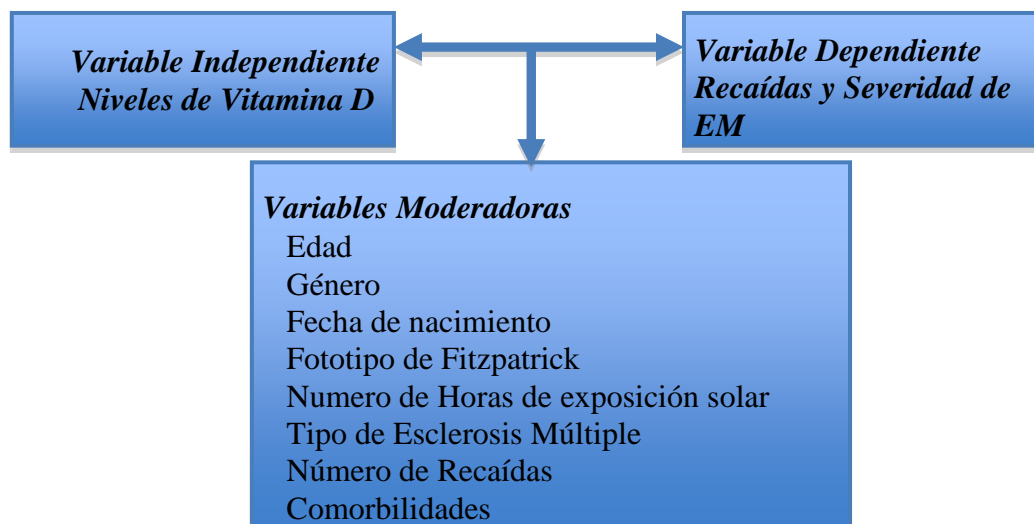


Color de piel	Variable moderadora	Identificación de la coloración de la piel según la escala de Fitzpatrick	Cualitativa policotómica	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	<p>Tipo I Blanco: muy justo; pecas.</p> <p>Tipo II Blanco: justo. Por lo general se quema, se broncea con dificultad</p> <p>Tipo III color beige, muy común. A veces,</p> <p>Tipo IV color beige con un tinte marrón, piel Mediterráneo de la raza caucásica.</p> <p>Tipo V color marrón oscuro. Muy raramente se quema, se broncea fácilmente</p> <p>Tipo VI Negro.</p>	<p>Porcentaje</p> <p>Diferencia de promedios de promedios</p> <p>Regresión lineal</p>
---------------	---------------------	---	--------------------------	--	--	---

Número de horas de exposición solar	Variable moderadora	Cuantificación de los niveles de exposición a la luz ultravioleta por horas medida en	Cuantitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	Más de dos horas al día es positivo =1 Menos de dos horas al día negativo=2	Promedio Diferencia de promedios y correlación
Otras Enfermedades Asociadas	Variable moderadora	Una enfermedad causada por el sistema inmunitario, que ataca las células del propio organismo. En este caso, el sistema inmunitario se convierte en el agresor y ataca partes del cuerpo, en vez de protegerlas. Existe una respuesta inmune exagerada contra sustancias y tejidos que normalmente están presentes en el cuerpo.	Cualitativa	Cuestionario estandarizado a completar por cada uno de los casos, revisión de la historia clínica de cada uno de los casos	0=No comorbilidad 1=LES 2.=Alteración Tiroidea 3.=DM2 4.=HTA 5.=Dislipidemia 6.=Síndrome Metabólico 7=Obesidad 8.=Otras	Porcentaje
Nivel de vitamina D (calcidiol)	Variable Independiente	Guías del Colegio Americano de Endocrinología (Edición 2011)	Cualitativa	Recolección de muestras sanguíneas realizada a cada uno de los casos durante la realización del estudio	1.- Deficiente 2.- Insuficiente 3.- Normal 4.-Óptimo	Promedio Porcentaje Correlación y Diferencia de promedios

Tipo de paciente	Variable Moderadora	Pacientes sanos	Cualitativa	Criterios de inclusión: Mismo Sexo Misma Edad Mismo Color de Piel	1 Caso 2 Control	Diferencia de Promedios
------------------	---------------------	-----------------	-------------	--	---------------------	-------------------------

#### 4.4 Matriz de Variables.



## **4.5 Criterios de Inclusión y Exclusión**

### **4.5.1 Criterios de Inclusión para enfermos con EM**

1. Hombres y Mujeres con diagnóstico de EM con criterios de Mc. Donald, de reciente diagnóstico año (2013 a 2014) o de diagnóstico previo pero en seguimiento en este período, independientemente del número de recaídas.
2. Paciente con edad mayor a 15 años y menor de 60 años.
3. Paciente que inicie tratamiento o ya esté recibiendo algún tipo de terapéutica para EM
4. Residencia en Pichincha captado desde Octubre del 2013 a Octubre del 2014.

### **4.5.2 Criterios de Exclusión para enfermos con EM**

1. Edad menor de 15 años y mayor de 60 años
2. Diagnóstico no concluyente de EM según los criterios de Mc. Donald
3. Espectro de Devic y otras enfermedades desmielinizantes como ELA, encefalomielitis, mielitis transversa.

### **4.5.3 Criterios de Inclusión para controles Sanos**

1. Sujeto sano pareado por sexo, edad y color de piel que sea de nacionalidad ecuatoriana y residente en Quito.

### **4.5.4 Criterios de Exclusión para controles Sanos**

1. Consumo crónico de alcohol o drogas de abuso.
2. Hospitalización actual o reciente.
3. Enfermedad crónica
4. Obesidad o tratamientos quirúrgicos de ésta.
5. Transfusiones recientes.
6. Uso crónico de determinados fármacos (antidepresivos, ansiolíticos anticonvulsivantes).
7. Actividad física crónica de moderada a intensa.
8. Embarazo o lactancia.
9. Dietas especiales.
10. No residente en Quito, Ecuador

## **4.6 Diseño General Del Estudio**

### **4.6.1 Estudio de Casos y Controles.**

La primera fase del estudio fue exploratoria se conoció el perfil epidemiológico de la población, una segunda fase donde se realizó el estudio casos y controles según criterios de inclusión y exclusión a donde se determinarán los valores séricos de Vitamina D.

Dada la baja prevalencia e incidencia de la enfermedad fue posible realizar un estudio de casos y controles dentro de determinados centro de referencia para obtener resultados estadísticamente significativos con una muestra calculada de 50 sujetos para cada grupo ya que la prevalencia de niveles bajos de Vitamina D es alta (0,60 según Dawson-Hughes et al. 2005). Dicho estudio se llevó a cabo en el Hospital Metropolitano y el Hospital Carlos Andrade Marín.

Se trabajó con el número de pacientes diagnosticados y en seguimiento del Hospital Metropolitano de Quito y del Hospital Carlos Andrade Marín en el período establecido entre Octubre del 2013 a Octubre del 2014.

## **4.7 Procedimientos de Recolección de Información.**

Para la obtención de datos se realizó una encuesta, dicha información se recolectó en consulta externa por parte de la autora de este proyecto y con ayuda de los jefes de servicio del departamento de Neurología de ambos centros de referencia, en formato físico y de manera adjunta al consentimiento informado, anexo 1 y 2. Posteriormente se transcribió la información de la encuesta en una hoja electrónica.

Algunos pacientes olvidaron registrar datos como fechas de nacimiento y años de enfermedad por lo que fue necesario contactarlos vía telefónica y revisar sus historias clínicas para completar los datos y asegurarnos de que cumplan criterios de Mc Donald. En los casos en que los pacientes estaban discapacitados y no fue posible tomar sus datos en consulta externa, fue necesario realizar visitas domiciliarias para la realización de la encuesta así como para la toma de las muestras de sangre. Cabe recalcar que la totalidad de los pacientes encuestados aceptó previamente el consentimiento informado.

#### **4.8 Procedimientos de Diagnóstico.**

Para la dosificación de Vitamina D tanto en los casos de EM como en sus controles se utilizará sistema de medida específico para la forma D3 de la 25-hidroxi vitamina D (el test Elecsys Vitamin D3 (25-OH), de Roche Diagnostics). Test que utiliza el Hospital metropolitano de Quito. Dicho test ya ha sido validado en otras partes del Mundo como España, Australia y Estados Unidos. (*Alfonso et al, 2012*)

En los últimos años se ha producido una demanda exponencial en el mercado de diferentes inmunoensayos para Vitamina D automatizados (Abbott, Liason, IDS- iSYS, Roche, Siemens.) que utilizan anticuerpos o proteínas de unión como ligandos, y quimioluminiscencia (CMIA) o electro quimioluminiscencia (ECLIA) como marcador de señal, y que pueden ser integrados en plataformas analíticas, ha hecho que la mayoría de los laboratorios clínicos utilicen estos métodos, que ofrecen el mejor rendimiento. (*Alfonso et al, 2012*)

##### **4.8.1 Valores de Referencia de Vitamina D para el Estudio.**

En base a la bibliografía revisada, los valores de referencia poblacionales han sido calculados por separado, en función de la edad y la época del año en los países antes mencionados.

En el año 2011, la Sociedad Americana de Endocrinología en su Guía de práctica Clínica (Holick et al, 2011) definió como deficiencia valores de 25 OH D < 50 nmol/L (20 ng/ml) y como insuficiencia valores de 52,5-72,5 nmol/L (21-29 ng/ml). En la actualidad no existe un consenso para definir el estatus de Vitamina D, aunque se considera que los niveles deseables estarían en torno a los 75 nmol/L (30 ng/ml), dado que es a partir de esta cifra cuando la administración exógena de vitamina D no consigue aumentar los niveles de 1,25(OH) 2D ni reducir la concentración de PTH. (Ross, 2011)

Para identificar población de riesgo de deficiencia / insuficiencia podríamos utilizar los siguientes valores de 25(OH) Vitamina D:

- Menor de 25 nmol/L (10 ng/ml): deficiencia, con riesgo de raquitismo en los niños y osteomalacia en los adultos.
- Entre 27,5-72,5 nmol/L (11-29 ng/ml): insuficiencia, que significa sustrato insuficiente para la síntesis de 1,25(OH) 2D y que puede ser evaluada también por el aumento de los niveles de PTH.
- Mayor de 75 nmol/L (30 ng/ml): Suficiencia/Deseables.

**Tabla 2: Valores Referenciales DE 25 (OH) Vitamina D**

<b>Categorización de los Niveles de Vitamina D</b>	<b>Ross 2011</b>	<b>Hollick 2013</b>	<b>Heaney 2011</b>	<b>Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for VD 2011</b>
<b>Óptimo / Preferido</b>		40 a 60 ng /ml		
<b>Normal o Suficiente</b>	20 ng/ml	30 ng /ml	Más de 30 ng/ml	Mayor o igual 30 ng /ml
<b>Insuficiencia</b>				29 a 11 ng/ml
<b>Deficiencia</b>	Menor de 20 ng /ml	Menor a 20 ng/ml		Menor a 10 ng/ml

Valores tomados de: Ross CA Institute of Medicine of the National Academies. 2011; Holick MF. Endocrine Society Practice Guideline. 2011

En la actualidad no existe un consenso para definir el estatus de Vitamina D, aunque se considera que los niveles deseables estarían en torno a los 75 nmol/L (30 ng/ml), dado que es a partir de esta cifra cuando la administración exógena de vitamina D no consigue aumentar los niveles de 1,25(OH) 2D ni reducir la concentración de PTH (Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium and Vitamin D, 2010)

#### **4.9 Plan de Análisis de los Resultados.**

##### **Análisis Descriptivo**

- Sobre las variables numéricas se realizó el cálculo de las medidas de tendencia central y dispersión según sean de la distribución normal o no, se utilizó media, mediana, desviación estándar, rangos o cuartiles.
- Sobre las variables cualitativas se realizó el cálculo de frecuencia expresada en porcentaje.

##### **Análisis Inferencial**

- Se realizó diferencia de promedios para niveles de Vitamina D total entre los casos y controles.
- Para la Escala de severidad y su relación con la Vitamina D se realizó una T de Student correlación estadística.
- Para valorar el número de recaídas y su relación con el nivel de Vitamina D se realizó una T de Student y una correlación estadística.
- Para valorar cual es el impacto de otros factores de riesgo en pacientes con EM en los niveles de vitamina D se realizó una regresión lineal.



## **CAPITULO V: ASPECTOS ADMINISTRATIVOS**

### **5.1 Recursos Humanos y Materiales.**

- a) Recursos humanos: El equipo de investigación estará conformado por la autora de la tesis, el asesor metodológico y director académico, quienes son docentes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- b) Recursos materiales: La autora suministrará la papelería para la recolección de los datos, así como, los computadores, memorias flash para el análisis de datos y la edición del informe final. Los libros médicos, revistas médicas y otros documentos científicos serán facilitados por la Biblioteca de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, así también los tubos de ensayo, jeringas y otros artefactos, para la obtención de la muestra serán financiados por la autora de la tesis.

#### **5.1.1 Beneficios para los Sujetos Involucrados en el Estudio.**

La dosificación de vitamina D en los sujetos involucrados en dicho estudio, podría aportar un beneficio directo, es decir diagnóstico de deficiencia o insuficiencia si existiera en ese momento. Así también beneficios indirectos, permitiendo conocer la importancia de la dosificación y suplementación de la Vitamina D en pacientes con Esclerosis Múltiple de Pichincha.

Al ser un estudio basado en realización de una prueba de laboratorio (dosificación de Vitamina D) la posible molestia sería la de la inserción de la aguja para la recolección de la muestra.

#### **5.1.2 Obtención de consentimiento para la participación en el estudio.**

La información para el estudio, se obtuvo directamente de la entrevista y la realización del cuestionario de los pacientes, que fueron atendidos en el área de consulta externa de los hospitales antes mencionados. Se obtuvo el consentimiento informado de los padres y/o representantes de los sujetos en estudio, por ser pacientes menores de edad o por ser pacientes que presenten un grado de discapacidad que impida la firma del documento.

Por lo expresado, se solicitará las autorizaciones correspondientes a las autoridades del Hospital Metropolitano de Quito y del Hospital Carlos Andrade Marín para la revisión de las historias clínicas y la recolección de la información, con la garantía absoluta de la confidencialidad de la identidad de las pacientes, y para toda la información recolectada, la reserva correspondiente.

### **5.1.3 Confidencialidad de la Información.**

La información es privada, y por lo tanto se conservará la confidencialidad de los datos obtenidos. La información será presentada en la disertación del trabajo final de tesis del investigador. Si los resultados de este estudio se publican o presentan, se obviara cualquier dato, que pudiese identificar, de alguna manera a los participantes. Se adjunta el modelo del consentimiento informado utilizado en el estudio dentro del acápite de anexos de esta disertación.

## **5.2 Recursos Utilizados**

La evaluación del nivel sérico de vitamina D es un sistema de medida específico para la forma D3 de la 25-hidroxi vitamina D (el test Elecsys Vitamin D3 (25-OH) de Roche Diagnostics). Dicho reactivo estuvo avaluado en 800 dólares (Al 2 de Abril del 2014). Un solo frasco o lote de reactivo alcanza para evaluar a 100 pacientes. El dinero para la compra de reactivo fue financiado en su totalidad por el investigador. La dosificación de las muestras se realizó antes de finalizar el año 2014.

## **CAPITULO VI: RESULTADOS**

### **6.1 Limitaciones.**

El lote de reactivo de vitamina D sirve para aproximadamente 100 pruebas y el universo encontrado desde Octubre del 2013 a Octubre del 2014 fue un estimado de 81 pacientes, por lo que con esta certeza, la muestra calculada fue de 50 pacientes a los cuales se les

buscó 50 controles, por lo que fue suficiente un solo lote de reactivo. Existieron personas que se negaron a participar en el estudio o en la encuesta incluso que respondieron a esta de manera incompleta.

Cuando comparamos diferentes ensayos acerca de niveles de Vitamina D en sangre, existieron los siguientes problemas: falta de estandarización frente a material de referencia, falta de trazabilidad de los estándares empleados por los diferentes fabricantes, diferente especificidad de los anticuerpos empleados y diferente afinidad por D3 o D2, además de que no existe actualmente un nivel estandarizado de vitamina D que se considere normal en el paciente ecuatoriano y peor aún que tenga en cuenta estimaciones para sexo, edad, color de piel, incluso tipo de alimentación por eso la importancia de realizar este proyecto buscando controles pareados por sexo, edad y color de piel.

La toma de muestra se realizó en cualquier momento del día, tomando en cuenta la disponibilidad de los pacientes. Por último muchos de los pacientes en ese momento padecían formas severas de EM y se encontraban en su casa encamados por lo que fue necesario agendar una visita domiciliaria para la obtención de la muestra.

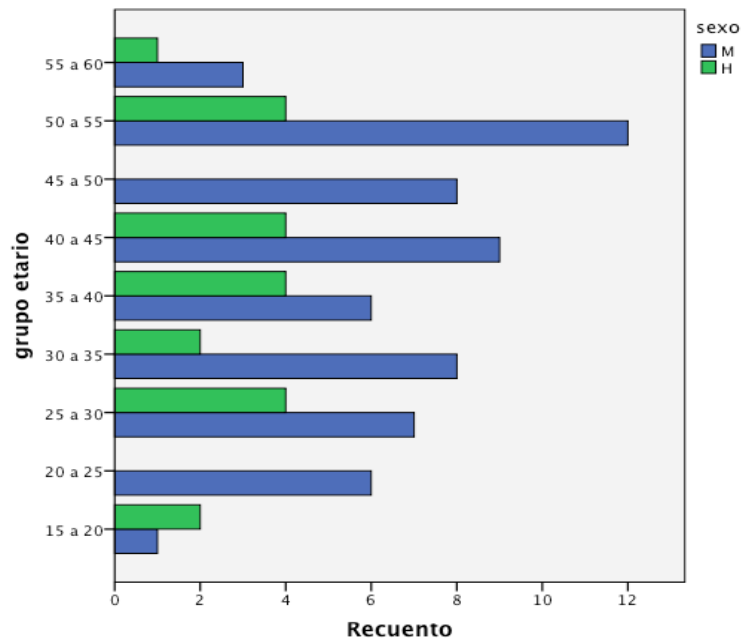
## **6.2 Análisis Descriptivo de la Población con EM de Pichincha.**

### **6.2.1 Características Generales de la Población con Esclerosis Múltiple.**

En los Hospitales HCAM Y HMQ se obtuvo un total de ( $N= 81$ ) sujetos de los cuales el 74,1 % ( $n=60$ ) fueron mujeres y 25,9 % ( $n= 21$ ) fueron varones. La media de edad fue de 39,19  $SD=11,5$  años. El valor máximo de edad fue de 60 años y mínimo de edad de 15 años. El grupo etario preponderante fue el de 50 a 55 años con un 19,8 %, siendo conformado por mujeres ( $n= 12$ ) y varones ( $n= 4$ ). Ver figura 1

**Figura 1: Género y Grupo de Edad.**

(N=81)

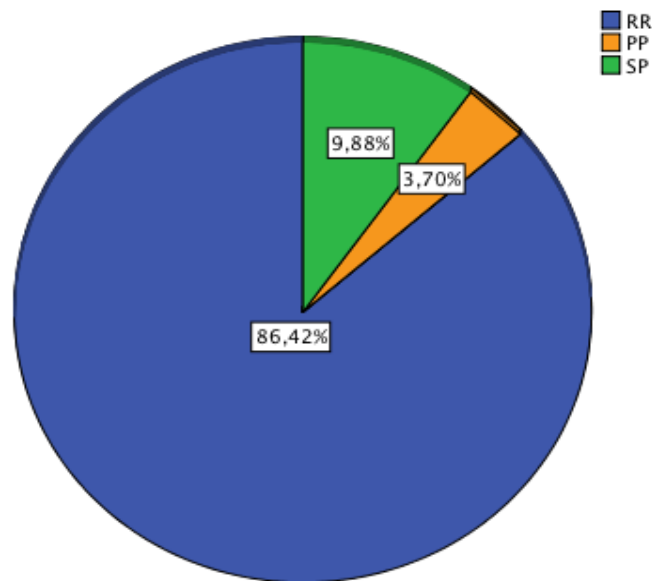


La mayoría de pacientes fueron originarios de Pichincha 73 % ( $n=59$ ), seguidos por Manabí en 6,1% y 3,7% de Chimborazo e Imbabura; todos los pacientes son residentes en Pichincha.

Cuando se agrupo según los tipos de esclerosis múltiple, se encontró que la variante remitente recurrente fue la predominante con 86,42% ( $n=70$ ). Ver *figura 2*.

**Figura 2. Tipos de Esclerosis Múltiple**

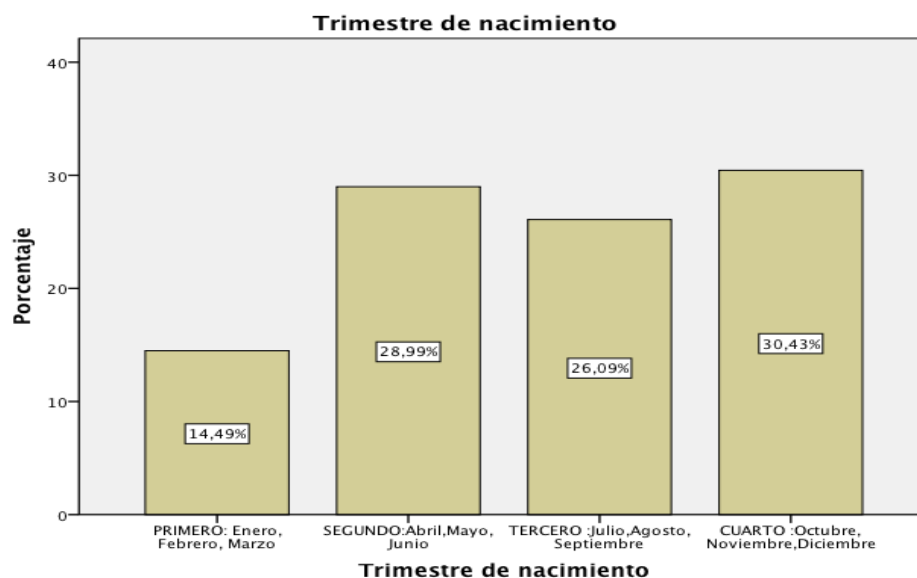
(N=81)



Al analizar las fechas de nacimiento de los sujetos con EM, se decidió dividir los meses del año en trimestres. En la *Figura 3* se observa que el 30,43% de nacimientos ( $n=15$ ) se concentraron en el cuarto trimestre del año.

**Figura 3: Trimestres de Nacimiento en Pacientes con EM.**

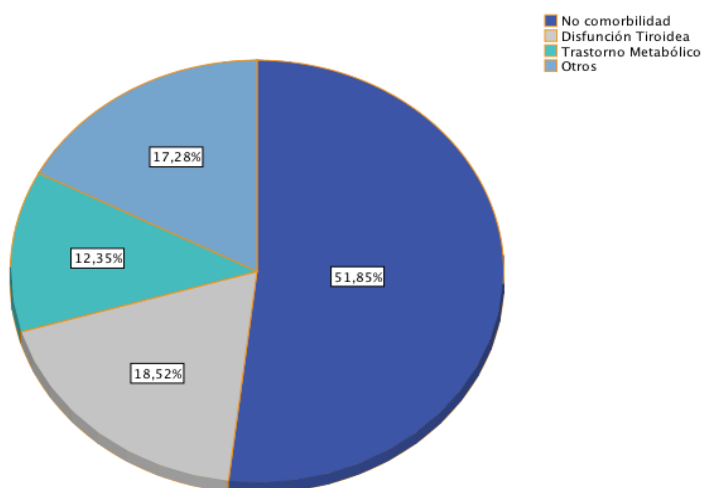
(N=81)



Se identificó que 18.52 % ( $n=15$ ) enfermos tuvieron hipotiroidismo clínico y subclínico

confirmado, siendo el trastorno tiroideo la patología asociada más prevalente, seguido de otros trastornos metabólicos en un 17,28% ( $n=14$ ). Ver *figura 4*

**Figura 4: Comorbilidades en Pacientes con EM**  
(N=81)

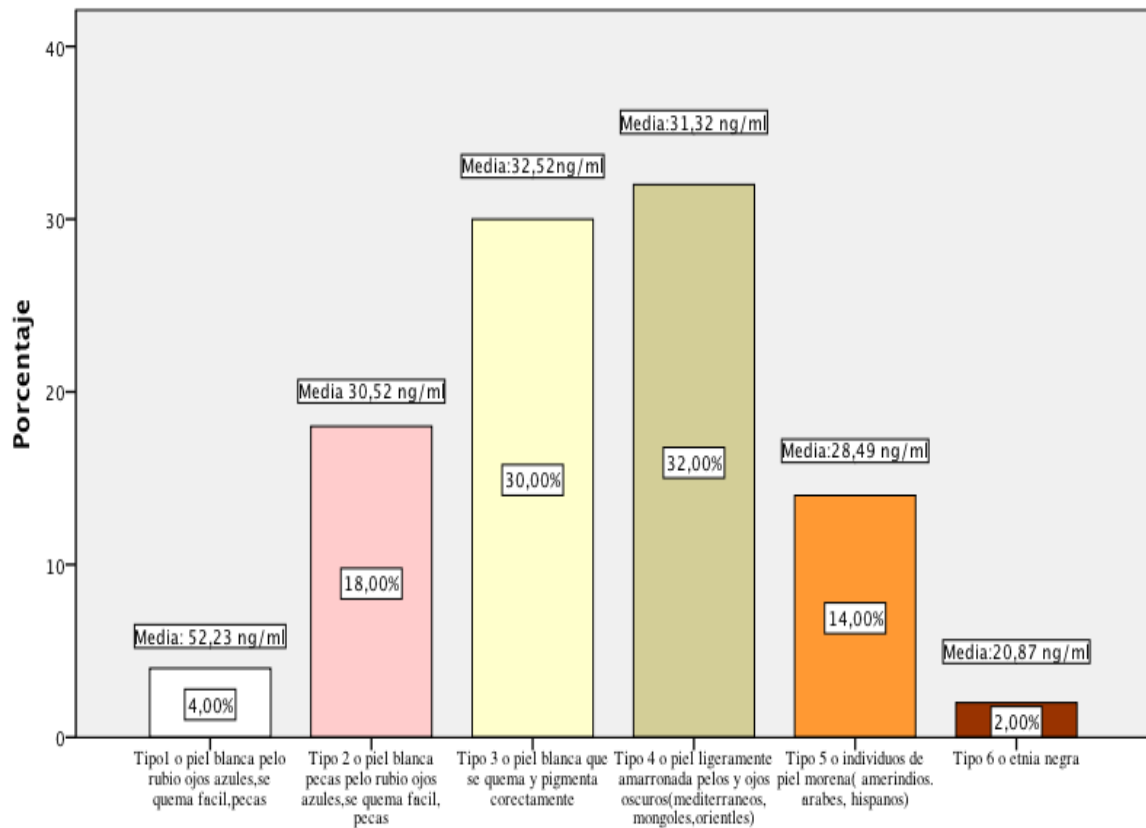


En el grupo de pacientes con hipotiroidismo las mujeres conformaron 93,3% ( $n=75$ ) y el grupo etario preponderante fue el de las edades comprendidas entre 45 y 55 años. Además se encontró a dos pacientes que concomitantemente presentaban Lupus Eritematoso Sistémico; cumpliendo así criterios para síndrome autoinmune múltiple de tipo III.

Al analizar el fototipo cutáneo se observó que el fototipo cutáneo tipo IV fue el más frecuente con 32% ( $n=16$ ). Al realizar medias de vitamina D para cada fototipo cutáneo se pudo observar que los fototipos II, III, IV presentaron niveles mayores a 30 ng/ml, pero tan solo el fototipo cutáneo tipo I tiene niveles séricos de Vitamina D considerados como óptimos (mayores a 40 ng/ml). Ver *figura 5*

**Figura 5: Fototipo Cutáneo en Pacientes con EM**

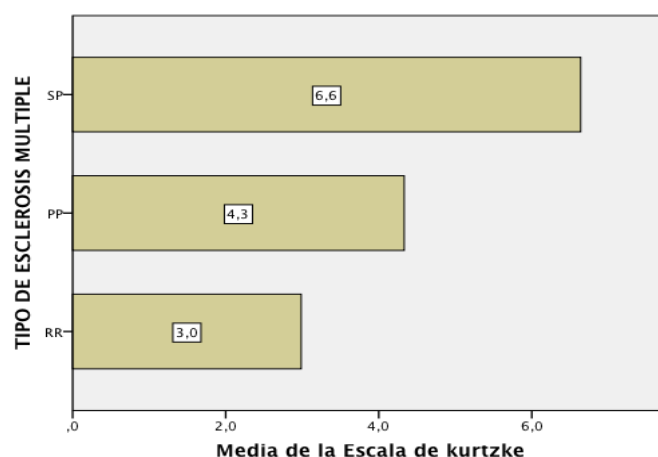
(N=81)



Cuando se aplicó la escala de Kurtzke, se obtuvo una puntuación mínima de 1,0 y una máxima de 10 con un valor promedio de  $M=3,397$   $SD=2,3$  puntos, además se comparó la escala de Kurtzke para cada variante de Esclerosis Múltiple ver *figura 6*.

**Figura 6: Medias de la Escala de Kurtzke y Tipo de EM.**

(N=81)

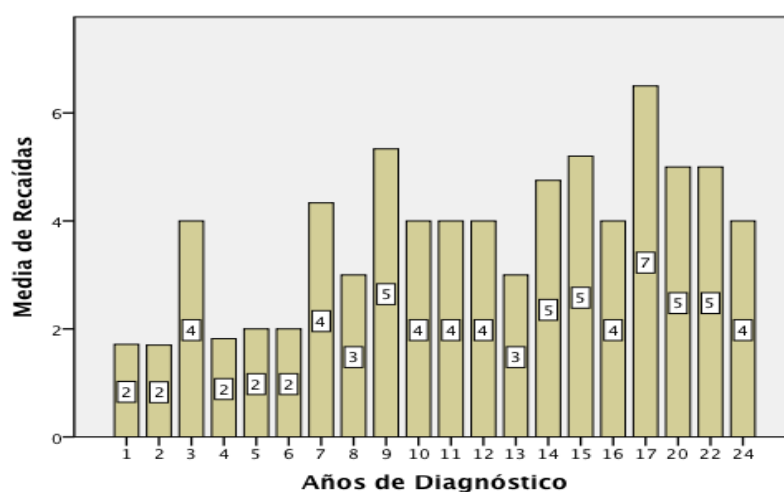


Se puede apreciar que la media de la escala de Kurtzke varía de acuerdo al tipo de EM. La variante secundariamente progresiva obtuvo un promedio de  $M=6,6$  puntos en escala de Kurtzke.

Al analizar número de recaídas se evidenció que el mínimo fue de uno con un máximo de ocho y en promedio hubo  $M=2,8$  recaídas  $SD=1,9$ . En cuanto a los años de enfermedad el mínimo fue de un año con un máximo 24 años y un promedio de  $M=6,35$   $DE=5,8$  años de enfermedad. Se relacionó la media de recaídas con los años de enfermedad ver *figura 7*

**Figura 7: Media de Recaídas y Años de Diagnóstico.**

(N=81)



Se muestra una asociación positiva. A medida que incrementan los años de enfermedad aumenta el número de recaídas de la enfermedad.



## 6.3 ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES

### 6.3.1. Características Generales de la muestra.

Se seleccionó de forma aleatoria una muestra de 50 pacientes del grupo de 81 enfermos captados desde octubre del 2013 a Octubre del 2014, para contrastarlos contra 50 personas seleccionadas al azar de la población general. Pareados por género, edad y color de piel.

La media de edad fue de  $M=39,96$   $SD=11,7$ . El grupo etario preponderante fue el de 50 A 55 años con un 24% ( $n=12$ ), sin encontrar diferencias estadísticamente significativas con la población. Ver *tabla 3*

La variante remitente recurrente fue la predominante con 92 % ( $n=46$ ); El 30% de nacimientos ( $n=15$ ) se concentraron en el cuarto trimestre del año.

El trastorno tiroideo y otros trastornos metabólicos obtuvieron un 12% ( $n=6$ ). Al analizar el fototipo cutáneo se observó que el fototipo cutáneo tipo IV fue el más frecuente con 32% ( $n=16$ ).

Cuando se aplicó la escala de Kurtzke, se obtuvo una puntuación mínima de uno y una máxima de puntuación de diez con una media de  $M=3,2$   $SD=2,2$  puntos.

El número de recaídas fue un mínimo de 1 y un máximo de 15, con una media de  $M=2,6$  recaídas  $SD=3,0$ .

En cuanto a los años de enfermedad el mínimo fue uno y el máximo veinte y uno con una media de  $M=6,7$  años de enfermedad  $SD=5,9$

**Tabla 3: Comparación de Variables entre el Universo y la Muestra de Estudio.**

<b>Variable</b>	<b>Población Total (N=81)</b>	<b>Muestra para recolección de Vitamina D (n=50)</b>	<b>Diferencia Estadística</b>
<b>Edad</b>	39,19 (IC 36,64 - 41,73)	39,96 (IC 36,73 - 43,19)	t dos colas: 1,66 p:0,71
<b>Género</b>	H: 23 (28%) M: 58 (72%)	H: 16 (32%) M: 32 (64%)	Chi <sup>2</sup> corregido (Yates): 0,4360 p dos colas: 0,51
<b>Trimestre de Nacimiento</b>	1: 14% 2: 29% 3: 26% 4: 30%	1: 13% 2: 29% 3: 27% 4: 31%	
<b>Fototipo cutáneo según la escala de Fitzpatrick</b>	I: 4,94% II: 18,81% III: 30,86% IV: 33% V: 14,81% VI: 1,23%	I: 6% II: 14% III: 30% IV: 34% V: 14% VI: 2%	
<b>Tipo de EM</b>	RR: 86% PP: 10% SP: 4%	RR: 92% PP: 6% SP: 2%	
<b>Fumadores</b>	32%	29,63%	p >0,05
<b>Numero de recaídas</b>	2,8 (IC: 2,38-3,23)	3,04 (IC: 2,47-3,61)	t dos colas: 1,98 p: 0,51
<b>Score de Kurtzke</b>	3,49 (IC: 2,8-4,18)	3,4 (IC: 2,87-3,93)	t dos colas: 1,98 p: 0,83
<b>Comorbilidades</b>	LES: 2 (4%) DM-2: 1 (2%) Hipotiroidismo: 8 (16%) HTA: 2 (4%) Dislipidemia: 1 (2%)	LES: 2 (2,47%) DM-2: 3 (3,7%) Hipotiroidismo: 14 (17,28%) HTA: 3 (3,7%) Dislipidemia: 2 (2,47%)	

### 6.3.2.1 Determinación y Comparación de los Niveles de Vitamina D.

El nivel promedio de Vitamina D de los pacientes con EM fue de  $M=31,42$  y el promedio de vitamina D de en los controles fue de  $M=30,09$ . Ver *tabla 4*

Tanto en los enfermos con EM como en sus controles fue más frecuente la insuficiencia de vitamina D sérica (niveles de entre 11 y 28 en ng /ml); con una prevalencia de 42% ( $n=21$ ) en los enfermos y de 46% ( $n=23$ ) en los controles.

La suficiencia de vitamina D (nivel de más de 30 ng/ml) se encontró en el 30% en los pacientes con EM y de 40% en los controles.

Los Niveles óptimos de vitamina D sérica (más de 40 ng /ml) se evidenciaron en el 26% de los enfermos, y en el 14% de los controles. La deficiencia de vitamina D se encontró únicamente en el dos por ciento de los pacientes con EM.

**Tabla 4: Comparación entre los Niveles de vitamina D de los Pacientes con EM y Controles Sanos de la Población General**

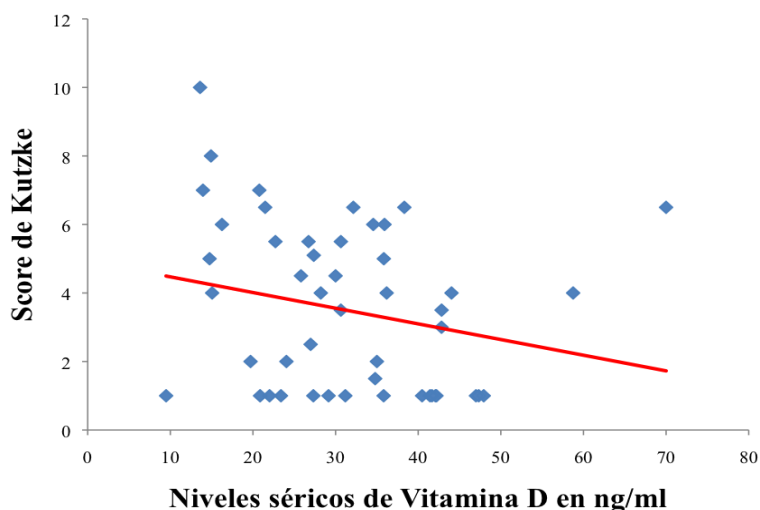
Parámetro	Casos (n=50)	Controles (n=50)	Valor crítico de t (dos colas)
Media	31,42	30,09	1,99 GL:87 (p= 0,53)
IC al 95%	27,96 - 34,88	27,7 - 32,48	
Óptimo (>40 ng/dl)	n=13	n=7	p > 0,05
Suficientes (30 a 39 ng/dl)	n=14	n=20	p > 0,05
Insuficiente (11 a 29 ng/dl)	n=22	n=23	p > 0,05
Deficientes (<10 ng/dl)	n=1	n=0	p > 0,05

### 6.3.2.2. Relación de los Niveles de Vitamina D y Severidad de la Enfermedad.

Cuando se evaluó la severidad de la enfermedad medida por la escala de Kurtzke y se correlacionó con los niveles séricos de Vitamina D. Se evidenció una tendencia, con una correlación negativa: a medida que incrementan los niveles de Vitamina D disminuye la severidad de la enfermedad con un valor  $r(51) = .23$ , es decir 23% de esta relación se explica por la Vitamina D y el 71% se debe a otros factores. Ver figura 8

**Figura 8: Gráfico de Dispersión de Valores de Vitamina D en Pacientes con EM en Relación con Escala de Kurtzke.**

(n=50)



Para hacer la comparación se utilizó un punto de corte de la escala de Kurtzke en 3,5 ya que a partir de este puntaje que el paciente deja de encontrarse ambulatorio. Se encontró que el promedio de pacientes con Kurtzke  $<3,5$  puntos fue de  $M= 33,19$  ng/ml. y con Kurtzke  $>3,5$  puntos de  $M=29,5$  ng/ml  $p>=.05$ . Ver tabla 5

**Tabla 5: Comparación entre los Niveles de Vitamina D de los Pacientes con EM según su Grado de Discapacidad (n=50)**

	Score de Kurtzke < 3.5 (Baja discapacidad)	Score de Kurtzke >3.5 (Alta Discapacidad)	Valor crítico de t (dos colas)
<b>Media de Niveles de Vitamina D (ng/dl)</b>	33,19	29,5	22,02 GL: 4 (p:0,30)
<b>IC al 95% (ng/ml)</b>	29,05 - 37,32	23,61-35,39	

Cuando se calculó la relación existente entre los niveles óptimos de Vitamina D (>40 ng/ml) con un bajo grado de discapacidad, definiendo esta como la presencia de la Escala de Kurtzke, < 3,5 se encontró una asociación estadísticamente no significativa  $X^2(1, n=50) = 3.13$   $p = .05$

### 6.3.2.3 Relación entre el Comportamiento de la EM y Niveles de Vitamina D.

Se encontró que el promedio de Vitamina D en los pacientes con más de una recaída fue de  $M = 31,0$  ng /ml y con menos de una recaída fue  $M = 32,49$ ,  $p \geq .05$  Ver tabla 7.

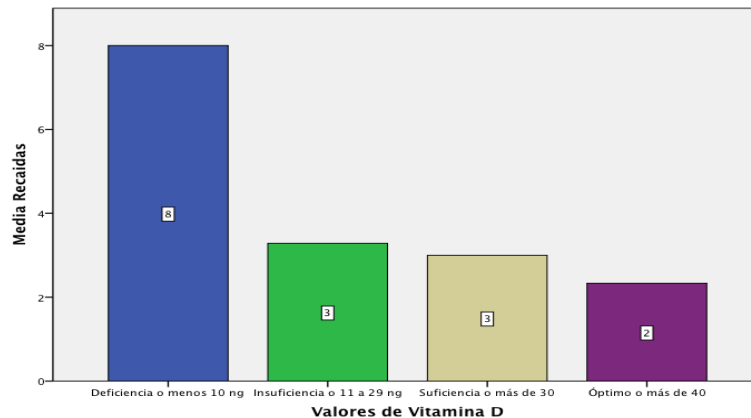
**Tabla 6: Prueba T de Niveles de Vitamina D según Tasa de Recaídas (n=50)**

	Una recaída o ninguna	Más de una Recaída	Valor crítico de t (dos colas)
<b>Media de Niveles de Vitamina D (ng/ml)</b>	32,49	31,00	2,03 GL: 34 (p:0,66)
<b>IC al 95% (ng/ml)</b>	27,13-37,84	26,53-35,47	

Cuando se correlacionó los niveles de vitamina D y el número de recaídas se evidenció, una tendencia con una correlación negativa: A medida que incrementan los niveles de Vitamina D disminuye el número de recaídas un valor  $r(36) = .43$ .

Es decir 43% de las recaídas se explica por niveles bajos Vitamina D. Ver figura 9

**Figura 9: Valores de Vitamina D Y Recaídas**  
(n=50)

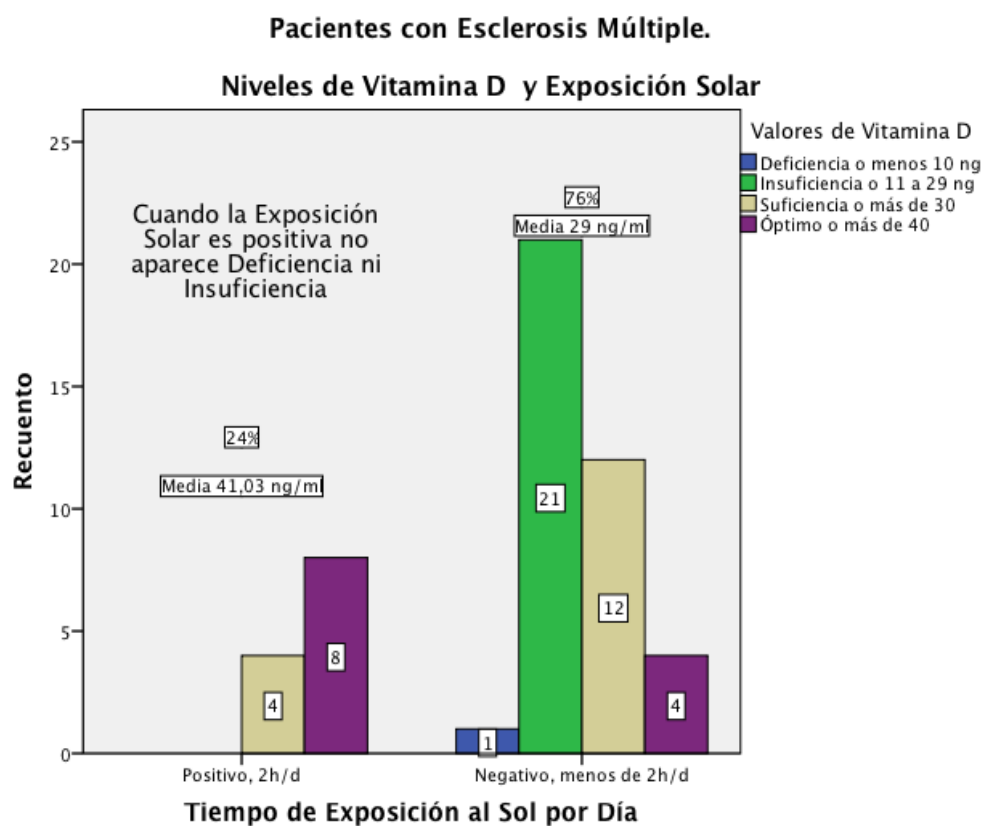


Cuando se estratifican los niveles de vitamina D en cuatro categorías, se observa una tendencia que indica que el número de recaídas aumenta mientras más bajo es el nivel de vitamina D.

#### **6.3.2.4 Estudio de los Factores Relacionados con los Niveles de Vitamina D.**

El valor promedio de los niveles de Vitamina D en el grupo con exposición solar positiva fue de  $M = 41,03$  ng/ml  $SD=8,3$  y en el grupo de exposición solar negativa se encontró un valor promedio de  $M= 29,0$  ng/ml  $SD= 11,5$ .

**Figura 10: Niveles de Vitamina D y Exposición Solar en Pacientes con EM**  
(n=50)



Para demostrar que esta diferencia de promedios no se debe al azar se realizó una T de Student y una correlación entre el grupo de exposición solar positiva y los niveles de Vitamina D, como se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 7: Prueba T entre los Niveles de Vitamina D de los Pacientes con EM según su nivel Exposición Solar**  
(n=50)

	Exposición Solar Positiva (>2h)	Exposición Solar Negativa (<2h)	Valor crítico de t (dos colas)
Media de Niveles de Vitamina D en ng/dl	41,03	29,43	2,09 GL: 20 (p:0,037)
IC al 95% (ng/ml)	30,80-44,62	25,48-33,37	

Para demostrar que esta diferencia de promedios no se debe al azar se realizó una correlación entre el grupo de exposición solar positiva y los niveles de Vitamina D. Obteniéndose una correlación positiva y significativa. Cuando la exposición solar es considerada como positiva incrementan los niveles de Vitamina D con una  $r(25)=.41$ . Es decir el 41% de los niveles adecuados de Vitamina D se deben a la exposición solar mayor de dos horas en los pacientes con EM y el restante 59% se debe a otros factores.

### **6.3.2.5 Análisis Multivariado de los Factores Asociados a Niveles de Vitamina D.**

Para la evaluación del impacto de las diferentes variables recolectadas sobre los niveles de vitamina D en el grupo de casos se decidió realizar una regresión lineal. Para esto se seleccionó aquellas variables en las que se ha reconocido en la literatura que tienen impacto sobre los niveles de vitamina D.

De todas las variables analizadas estas son:

- Edad
- Consumo de tabaco
- Exposición solar negativa
- Fototipos cutáneos tabulados como la suma de los fenotipos de piel más prevalentes en la muestra (fototipo cutáneo 3 y 4), el fototipo de piel tipo I y fototipo de piel tipo VI

Luego de tres iteraciones, en las cuales se eliminó las variables que no alcanzaron la significación estadística se llega al siguiente modelo:

$$Niveles\_de\_vitamina\_D = \beta_0 - \beta_1 edad - \beta_2 exposicion\_al\_Sol + \beta_3 Piel\_tipo\_1$$

Se debe resaltar que el valor de  $R^2$  de esta iteración se encuentra en 0,34 es decir que las variables con significación estadística de este modelo, explican en un 34% los niveles de vitamina D, esto es aceptable para nuestro modelo ya que la muestra empleada es relativamente pequeña y las variables empleadas son poco numerosas.



Analizando el valor de  $F$  global del modelo se observa que este es estadísticamente significativo ( $p= 0,0118$ ), de modo que el conjunto de variables empleado en esta iteración es estadísticamente significativas para explicar cambios en los niveles de Vitamina D.

A continuación se detalla los valores estadísticos del modelo como tal así como de todas las variables usadas dentro del mismo.

**Tabla 8: Parámetros Estadísticos de la Regresión Lineal.**

<b>Fuente</b>	<b>SS</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>MS</b>
<b>Modelo</b>	2443,03	7	349,003
<b>Residual</b>	4735,1	41	115,49
<b>Total</b>	7178,13	48	149,54
<b>Número de observaciones 49</b> $F(7, 41) = 3,02$ $p > F = 0,01$ $R^2 = 0,34$			

**Tabla 9: Variables Incluidas dentro de la Regresión Lineal.**

<b>Variable</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>Error Standard</b>	<b>T</b>	<b>p&gt;t</b>	<b>IC al 95%</b>
<b>Edad</b>	-1,25	0,90	-1,39	0,17	-3,07 a 0,56
<b>Edad<sup>2</sup></b>	0,02	0,01	1,63	0,11	-0,01 a 0,04
<b>Tabaco</b>	4,66	4,46	1,05	0,3	-4,35 a 13,67
<b>Exposición solar</b>	-7,53	3,67	-2,05	0,046	-14,94 a -0,13
<b>Fototipos III y IV</b>	3,85	3,53	1,09	0,28	-3,27 a 10,97
<b>Fototipo I</b>	13,69	7,68	1,78	0,08	-1,82 a 29,2
<b>Fototipo VI</b>	-7,85	11,29	-0,7	0,49	-30,65 a 14,95
<b>Constante</b>	49,73	16,67	2,98	0,005	16,07 a 83,39

Analizando en detalle cada una de las variables empleadas en esta iteración, se puede identificar que solamente la exposición al sol y el fototipo cutáneo tipo I alcanzaron un valor de p estadísticamente significativo en comparación al resto de variables empleadas. De este modo se puede decir que se encuentran correlacionadas con los niveles de Vitamina D. En el caso del fototipo cutáneo la relación es directa, mientras que en la exposición solar es inversa (puesto que la variable utilizada el valor positivo fue codificada como la ausencia de exposición solar).

En el caso de la edad la asociación inicialmente no fue significativa tanto por edad como para edad<sup>2</sup>, por lo que se realizó una prueba de significancia con las herramientas del software la cual arrojó que la variable edad tiene en realidad un efecto estadísticamente significativo sobre los niveles de vitamina D en cuanto a que por cada año de edad disminuye el nivel de Vitamina D pero en menor proporción que el año anterior (cada año baja el nivel sérico de Vitamina D pero menos que el año pasado).

## CAPITULO VII: DISCUSION

Dado que el estudio se realizó en dos centros de referencia nacional, uno público y otro privado es de esperarse que se tenga una distribución demográfica de los casos de EM semejante al perfil nacional, es decir con cerca de las tres cuartas partes de los pacientes provenientes de Pichincha y el resto de otras regiones del país. Esto puede ser producto de una falta de diagnóstico de la EM en la provincia donde este diagnóstico podría estar siendo desapercibido por los profesionales de la salud. Es interesante remarcar que en diferentes provincias de la Costa, la prevalencia de EM en nuestra muestra no deja de ser considerable (por ejemplo en provincias como Manabí la prevalencia de pacientes con EM en este estudio es cercana al 6%). Estudios realizados en el hemisferio norte en poblaciones costaneras de América atribuyen este efecto a la exploración y colonización parcial por parte de poblaciones vikingas de las regiones costaneras de los EEUU y Canadá. De este modo se cree que existió transmisión de la susceptibilidad a la EM de estas poblaciones hacia los nativos americanos así como otras poblaciones mucho más distantes en regiones remotas del Asia y Oceanía (Poser, 1995), lo que puede denominarse como un fenómeno de “Abrazo Vikingo”. Aunque no existe evidencia acerca de algún tipo de contacto entre las culturas nórdicas y las poblaciones costaneras de América del Sur, migraciones posteriores de individuos de etnia caucásica y nórdica hacia América Latina podrían contribuir a esta predisposición dentro de un área tropical donde la EM se cree es más bien rara.

En cuanto a perfiles de edad y género, el grupo de estudio presenta un comportamiento algo peculiar. Si bien la enfermedad conserva la predilección por el género femenino descrita en innumerables series, llama la atención que el grupo etario más afectado corresponde a las edades de entre 50 a 55 años (19,8 % de todos los casos), seguido por el del grupo etario de entre 40 a 45 años de edad. Esto se debe a que los pacientes con EM de la población de estudio corresponden a personas que fueron diagnosticadas a edades más tempranas de la enfermedad (media de evolución de la enfermedad de 6,35 años) y se ha registrado una estabilización de la incidencia de la enfermedad. Estudios recientes realizados en las regiones escandinavas corroboran esta observación, por ejemplo una observación de prevalencia realizada en el condado de Hordaland en Noruega (Grytten et al, 2015) documentó un pico en la prevalencia de EM en las edades entre 55 y 59 años en

mujeres y entre los 60 y 64 años en varones. Los investigadores atribuyen esto a factores ambientales que han permanecido estables pese a ser una región con un déficit de vitamina D poblacional reconocido. Además se atribuye la alta prevalencia en varones a mejorías en la supervivencia y el seguimiento clínico de estos casos.

Al estudiar las fechas de nacimiento de los pacientes separándolas por mes se encontró que el 10,3% de pacientes nacieron en Mayo, hallazgo que se ha repetido en otros estudios sobre todo en aquellos realizados en el hemisferio norte donde se evidencia un exceso de prevalencia de EM en los nacimientos de los meses de Abril y Mayo y un declive en la prevalencia de la enfermedad en los nacimientos correspondientes a los meses de Octubre y Noviembre (este efecto se ha denominado como el efecto “Month of Birth”). Esto es aparentemente explicado por el déficit de radiación ultravioleta en los meses de invierno (donde se lleva a cabo la gestación de los nacidos en mayo) el cual se relacionaría con una deficiencia intrauterina de la vitamina D (Willer et al 1987-2005). Desgraciadamente en la literatura existen muy pocos estudios que analicen si este fenómeno se replica en el hemisferio sur (donde los meses de invierno y verano se hallan invertidos con respecto al hemisferio norte) y su metodología es difícilmente comparable con la de los ensayos realizados en el hemisferio norte. Pese a ello es interesante resaltar que en la población de estudio al agrupar los meses del año en trimestres para poderlos analizar se observa que el número más alto de nacimientos en los pacientes con EM de la población de estudio corresponde al cuarto trimestre del año, lo que aparentemente estaría sustentado por este postulado. Se requiere una observación dirigida en cuanto a fecha de nacimiento y exposición a la radiación ultravioleta en esos años con el objetivo de corroborar esta observación. Sin embargo es solamente desde agosto del 2008 que el Ecuador dispone de un Atlas de irradiación solar (el cual abarca información hasta el año 2010), desarrollado por la Agencia Espacial del Ecuador, en la que se pueden encontrar datos sobre radiación global, difusa y directa en el Ecuador continental, antes de esta fecha no existe información. ([www.exa.ec](http://www.exa.ec))

En cuanto a la variedad de tipos de EM encontrados en la población de estudio se encontró que el 86,42 % corresponden a la variedad remitente recurrente, seguidas de un 9,8 % de la variedad secundariamente progresiva y apenas 3,7% del tipo primariamente progresiva, sin encontrarse casos de la variedad progresiva recurrente en esta población. Dichos hallazgos no difieren de los porcentajes en la literatura mundial.

Así también al integrar la información de cada variedad de EM con los niveles de Vitamina D, en todos los tipos de EM se encontró insuficiencia siendo predominante en el tipo RR, probablemente porque el número de pacientes que conformaban este grupo fue mayoritaria, el 90 %. Así también niveles de deficiencia se encontraron en esta variedad probablemente por la misma razón. Según el grupo estudiado no se puede aseverar que el nivel de vitamina D es más bajo en determinado tipo de EM, pero este hecho sugiere que en todos los tipos de EM hay insuficiencia de este inmunomodulador.

Cuando se aplicó la escala de Kurtzke por cada tipo de EM, se encontró que la media de puntuación para variedad RR fue la más baja. Este hallazgo es compatible con las observaciones tradicionales de la enfermedad siendo resultados que no distan de los encontrados a nivel mundial ya que es de suponerse que mientras más grave es el tipo de EM, mayor es el grado de discapacidad y según los resultados la media de recaídas por cada tipo de EM es similar en hombres y mujeres.

Al analizar el número de recaídas y realizar una correlación con el número de años de enfermedad esta fue significativa y positiva evidenciando que a medida que incrementan los años de enfermedad aumenta el número de recaídas de la enfermedad. Esta observación puede deberse a algunas explicaciones: la primera sería que las recaídas siguen a pesar de un tratamiento farmacológico correcto, probablemente porque son diagnosticados e inician tratamiento tardíamente. Otra suposición es que en esta serie de casos la enfermedad podría tener un curso clínico diferente pasados cierto número de años de evolución a pesar de un tratamiento correcto. Finalmente se podría pensar que existen factores independientes al tratamiento que estarían modificando el curso de la enfermedad a través de los años y quizás uno de estos podría ser la deficiencia de Vitamina D. Observaciones sobre la evolución temporal de la EM en poblaciones susceptibles como la de Grytten et al. Realizada en Noruega en 2015, que ya fue expuesta anteriormente en este documento hacen relación a una estabilización de la enfermedad en el tiempo mediada por factores ambientales no definidos. En ese estudio se observó que la calidad de vida de los pacientes fue mejor al pasar los años, sugiriendo una estabilización de la prevalencia si bien este estudio no hace énfasis en la cuantificación de recaídas. Otra observación retrospectiva realizada en una cohorte de 2477 pacientes con EMRR desde la fecha de su diagnóstico hasta el año 2003 (Tremlett et al, 2008) demostró un efecto directamente

proporcional entre las recaídas y la evolución de la enfermedad con las siguientes conclusiones fundamentales. La primera es que cualquier droga introducida en pacientes con una edad menor a 40 años en el momento del diagnóstico o durante los primeros cinco años de la enfermedad tiene mayor impacto en la presentación de recaídas a largo plazo. La segunda conclusión del estudio es que la continuación de un tratamiento farmacológico fuera de estos plazos establecidos es discutible. En tercer lugar es que las recaídas tienden a declinar a diferente velocidad según la edad de inicio de la enfermedad. Y finalmente es que la existencia de periodos de quiescencia sin recaídas de la enfermedad de tipo RR es sumamente frecuente. Con el objetivo de poder confirmar estas aseveraciones se requiere de un estudio de seguimiento con una cohorte más amplia a nivel local. No obstante, según observaciones realizadas en nuestra muestra si se cruzan la media de recaídas con años de diagnóstico pasados los 15 años de evolución de la enfermedad, parecería ser que la enfermedad se estabiliza por sí misma, aunque la metodología de este trabajo no está diseñada para realizar más comentarios sobre este hecho.

Cuando se estudió el fototipo cutáneo de acuerdo a la escala de Fitzpatrick se encontró que los fototipos de piel oscura III y IV fueron los más frecuentes, lo que puede explicar la tendencia a presentar un tono de piel más oscuro en las zonas ecuatoriales y tropicales (África subsahariana, Asia del Sur, Australia y Melanesia) que en las zonas ubicadas lejos del Ecuador (Genuis et al, 2009). Adicionalmente el fenotipo racial mestizo de nuestra población explicaría también este fenómeno. El factor subyacente que explica dicho notable relación entre la pigmentación de la piel y latitud parece ser la intensidad de la radiación UV, que es mayor en el ecuador y disminuye progresivamente a medida que aumenta la latitud. En el grupo de estudio es remarcable resaltar que los fototipos más claros presentaron niveles suficientes (40,4 ng/ml) y óptimos (70, ng/ml) de vitamina D en relación con los fototipos más oscuros. Los promedios de concentraciones de vitamina D fueron más altos en los enfermos con un fototipo cutáneo de entre I y II. Estos resultados son congruentes con observaciones anteriores donde se ha establecido que las personas de piel oscura (por ejemplo, de piel Fitzpatrick fototipo V/VI) requieren por lo menos 10 veces más exposición a la luz solar que los que tienen la piel clara (por ejemplo, fototipo II / III) para producir la misma cantidad de vitamina D en la piel (Holick, 2003). Esto sugiere que las personas con EM de piel más oscura estarían en desventaja selectiva en la síntesis de vitamina D, como es el caso de la población en estudio.

Sin embargo cuando se realizó una regresión lineal colocando todos los fototipos cutáneos de Fitzpatrick conjuntamente con otras variables, solo el fototipo de Fitzpatrick tipo I mostró ser un factor protector con una  $p$  estadísticamente significativa. Hay investigaciones que indican que los niveles de vitamina D son mucho más bajos durante todo el año en personas con tono la piel oscura frente a las personas de piel clara y que estos niveles más bajos de vitamina D no se pueden explicar por las diferencias en el consumo exógeno de vitamina D (Harris y Dawson-Hughes, 1998). La explicación de este fenómeno se debe a la baja cantidad de luz ultravioleta presente en las latitudes extremas, lo que estimulo un aumento de la eficiencia de producción de la vitamina D en las poblaciones de tez que migraron a estas regiones como un mecanismo de compensación ante la pobre radiación ultravioleta. Esta sería una de las explicaciones del porque casi no existen poblaciones de tez oscura en el hemisferio norte, puesto que los individuos de complexión africana fueron ambientalmente competitivos antes los individuos caucásicos por esta razón. Un ejemplo de esta observación se encuentra en un estudio realizado en la comunidad de Edmonton, Canadá donde se evaluó los niveles de vitamina D en la población general de tres centros médicos durante seis años (Genuis et al, 2009). Allí se identificó que más del 20% del grupo de estudio presentó algún tipo de deficiencia de vitamina D con particular prevalencia en las poblaciones nativas (que usualmente tienen piel más oscura que los individuos de origen europeo). Los autores del estudio hacen énfasis que las latitudes donde se realizó están sometidas a una cantidad insuficiente de radiación ultravioleta como para generar cantidades adecuadas de vitamina D durante los meses de octubre a marzo, por lo que estas variaciones específicas en grupos poblacionales determinados obedecen a otros factores intrínsecos de esa población.

A más del fototipo de piel de los pacientes de este estudio, existen otros parámetros de importancia a valorar en pacientes con EM en latitudes ecuatoriales, los cual se ha visto influencia sustancialmente los de niveles séricos de vitamina D. Uno de estos factores corresponde a las horas de exposición solar. Se debe recordar que el colecalciferol se sintetiza en la piel gracias a la radiación UVB. En el Ecuador el porcentaje de energía de radiación solar gracias a su localización geográfica, cuenta con un promedio diario de 3.98 kW/m. Esto significa que la energía potencial anual es de 2000 horas de radiación solar al año según la corporación para la investigación energética ecuatoriana (<http://www.energia.org.ec>) por lo que teóricamente los ecuatorianos en general no deberíamos tener una exposición solar negativa. Cuando se estudió a los 81 pacientes con

EM se encontró que el 75 % se exponían menos de dos horas del sol al día. Esto podría deberse al fenómeno de Uhtoff (sensibilidad al calor) que puede llevar a algunos enfermos evitar exponerse al sol y a el calor asociado sin olvidar a el propio curso de la enfermedad y la discapacidad que reduce las actividades al aire libre que favorecen a la exposición solar. Sin embargo se debe recordar que la gran mayoría de nuestros pacientes eran oficinistas o amas de casa, ocupaciones en las que tradicionalmente el trabajo se desarrolla puertas adentro en habitaciones muchas veces no muy iluminadas y que los periodos de actividad al aire libre son sumamente reducidos incluso ausentes. Cuando se realizó la comparación frente a controles sanos, se seleccionó 50 pacientes con EM en los cuales se estratificó la exposición solar como mayor a dos horas o positiva y menor a dos horas o negativa. Esta división se encuentra sustentada en observaciones que determinaron que para producir una síntesis adecuada de vitamina D en el día se necesitan al menos más de dos horas por día para que el fenómeno se lleve adecuadamente. Los resultados obtenidos demuestran que en el grupo de exposición solar positiva no presenta rangos de insuficiencia o deficiencia mientras que el grupo de exposición solar negativa si cuenta con pacientes de estas características. Cuando se compararon las medias de valores de vitamina D entre estos dos grupos, la media de Vitamina D fue de 41,3 ng/ml en el grupo de exposición solar positiva versus 29 ng/ml en el grupo de exposición solar negativa, siendo lo suficientemente significativas como para ilustrar una clara diferencia entre los niveles de ambos grupos.

Cuando se estudió a los 81 pacientes con EM se encontró que el 75 % se exponían menos de dos horas del sol al día. Esto podría deberse al fenómeno de Uhtoff (sensibilidad al calor) que puede llevar a algunos enfermos evitar exponerse al sol y a el calor asociado sin olvidar a el propio curso de la enfermedad y la discapacidad que reduce las actividades al aire libre que favorecen a la exposición solar.

En el grupo de 50 pacientes en los que se pudo realizar la determinación de los niveles de Vitamina D, se estratificó la exposición solar como mayor a dos horas o positiva y menor a dos horas o negativa. Los resultados obtenidos demostraron que en el grupo de exposición solar positiva, no aparecen rangos de insuficiencia o deficiencia, mientras que el grupo de exposición solar negativa si aparecen dichos rangos. Cuando se compararon las medias de valores de vitamina D entre estos dos grupos, la media de Vitamina D fue



de 41,3 ng/ml en el grupo de exposición solar positiva versus 29 ng/ml en el grupo de exposición solar negativa.

Para demostrar que dicha diferencia no fue un valor adjudicado al azar, se realizó una correlación entre la exposición solar y el nivel de Vitamina D la cual fue significativa. Demostrando que la exposición solar positiva en los sujetos con EM es un factor que influye en los niveles de vitamina D en pacientes con EM. Además cuando se realizó una regresión lineal conjuntamente con otras variables como presencia de comorbilidades y consumo de tabaco, la exposición solar mostró tener más peso estadístico al influir sobre los niveles de Vitamina D.

Dada la evidencia de alteraciones inmunológicas en la génesis de lesiones desmielinizantes en la esclerosis múltiple es importante mencionar su asociación con otras enfermedades ya que esto podría influenciar los niveles de vitamina D de los pacientes con EM. Al momento de analizar las comorbilidades más frecuentes en los pacientes con EM, sorprende que se identificase una prevalencia de 18,52% de alteración tiroidea (hipotiroidismo clínico y subclínico confirmado con presencia de anticuerpos anti tiroideos). Así mismo, es también conocido que los pacientes con EM tienen mayor riesgo de padecer otras enfermedades autoinmunes como el hipotiroidismo autoinmune, la diabetes Mellitus tipo I, el lupus eritematoso sistémico entre otras (Pascual A. y Torrejon M. 2012). Vale la pena mencionar que se encontraron dos pacientes que cumplieron criterios para síndrome autoinmune múltiple de tipo III, (Lupus Eritematoso Sistémico, Hipotiroidismo y Esclerosis Múltiple). Es interesante también recalcar que los pacientes con una tercera enfermedad autoinmune presentaron calificaciones altas en la escala de Kurtzke independientemente de la variante de Esclerosis Múltiple que los afectase. Sin embargo, cuando se realizó la prueba de Chi cuadrada para determinar si la existencia de una segunda enfermedad en los pacientes con EM intervendría en los niveles de Vitamina D, ningún resultado fue estadísticamente significativo motivo por el cual incluso se desarrolló una regresión lineal, donde la presencia de comorbilidades, como la Diabetes Mellitus o la Hipertensión Arterial no tenían más peso sobre otras variables como lo son las horas de exposición solar o la edad para el déficit de vitamina D. De igual manera cuando se analizó consumo de tabaco realizando regresión lineal conjuntamente con otros factores de riesgo esta variable no demostró tener más peso estadístico que la edad y la exposición solar para el déficit de vitamina D.

Cabe recalcar que este hecho se confirma con otros estudios a nivel mundial que indican que la edad avanzada reduce de manera fisiológica los niveles Vitamina D (Charles Pierrot-Deseilligny and Jean-Claude Souberbielle et al, 2013) y, esto a su vez podría explicar el aumento de recaídas en la etapa media y avanzada de la enfermedad, sin ser esto un regla, ya que no se debe pasar por alto los niveles en rangos de insuficiencia y deficiencia encontrados en pacientes de reciente diagnóstico o en etapas tempranas de EM.

Cuando se analizó el nivel de vitamina D en pacientes con EM comparados contra individuos sanos pareados por sexo, edad y color de piel se encontró que tanto en los pacientes con EM como en el grupo control, la prevalencia de insuficiencia de vitamina D fue elevada (42% en pacientes con EM y de 46% en los controles). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la comparación de los promedios de vitamina D de ambos grupos. Pese a esto es interesante recalcar que la presencia de deficiencia de vitamina D se encontró únicamente en el grupo de pacientes con EM, siendo completamente ausente en el grupo control. Estos hallazgos corroboran que existe deficiencia e insuficiencia de vitamina D en los pacientes con EM de nuestra población pero que también las concentraciones de esta vitamina no son óptimas en un gran porcentaje de personas sanas de la misma población.

Este postulado ha sido observado ya por un sin número de autores que han escrito sobre el tema, lo que ha llevado a plantearse acerca de cuáles son en realidad los niveles óptimos de vitamina D necesarios para evitar el desarrollo de enfermedades, sobre todo de tipo autoinmune. Las observaciones son complejas y no concluyentes, sin embargo en un estudio publicado en Osteoporosis International en el año de 2005 se realizó una evaluación sustancial de los niveles de vitamina D en relación a la osteoporosis por parte de un equipo de expertos en el tema (Dawson-Hughes et al, 2005). Se llegó a la conclusión que la gran mayoría de trabajos publicados hasta esa fecha definían que las concentraciones óptimas de vitamina D para prevenir el desarrollo de fracturas por osteoporosis era de entre 50 a 80 nmol/l. Sin embargo se recalcó en esta observación que cinco de seis autores ubicaban el limite deseable cerca de 70 a 80 nmol/l (lo que equivale aproximadamente a 30 ng/ml, limite utilizado en el estudio). La situación se torna más complicada cuando se trata de establecer límites óptimos para otras enfermedades (como la EM) puesto que el consenso no es fácil debido a la intervención de las variables genéticas

y ambientales ya mencionadas con anterioridad dentro de este trabajo. Debido a esto la gran mayoría de autores acepta los límites propuestos en este trabajo como estándares para la evaluación de la vitamina D en sus pacientes. Aun así las observaciones son muy variadas, puesto que existen estudios que como el nuestro no encuentran diferencias entre los niveles de vitamina D en la población sana y en los enfermos como es el caso de una cohorte prospectiva realizada en Holanda con 101 pacientes con EM frente a 107 individuos control donde no existieron diferencias significativas entre las concentraciones de vitamina D de ambos grupos (Kragt et al, 2009). Otros estudios en cambio demuestran el efecto contrario como es el caso de un estudio realizado en España por Correale y colaboradores donde se evidencio diferencias significativas entre los niveles de 25-dihidroxi vitamina D entre los sujetos enfermos con EM y los individuos sanos (Correale et al, 2009). También un estudio realizado en la India con una metodología semejante a nuestra observación encontró una asociación semejante utilizando igual niveles totales de vitamina D (Hatamian et al, 2013). Las diferencias pueden deberse a la metodología de selección de los controles, suplementación dietética de vitamina D no documentada, variables genéticas aún no esclarecidas o diferencias en la ingesta de alimentos antes de la toma de muestras. Se requiere la realización de una observación de gran tamaño en diferentes poblaciones y en diferentes latitudes utilizando una metodología uniforme para esclarecer de una vez por todos estos dilemas.

Pese a esos datos se puede sugerir que los pacientes con EM al tener un déficit ya establecido de vitamina D se encontrarían en desventaja puesto que su inmunidad celular sería aún más deficiente, lo que podría explicar el número de recaídas en los pacientes con niveles más bajos de vitamina D de nuestro estudio. Esto se sugiere ya que a medida que incrementan los niveles de Vitamina D disminuye el número de recaídas de la enfermedad con un valor de  $r = .43$ . Por lo que se interpreta que existe un papel inmunomodulador de esta sustancia, aunque no se sabe exactamente a partir de que rango exacto de Vitamina D. Sin embargo cuando analizamos la severidad de la enfermedad y su correlación con el nivel sérico de Vitamina D se encontró una correlación negativa no significativa de apenas veintitrés por ciento confirmando que la severidad de la enfermedad se debe a otros factores tales como el tipo de EM probablemente.

## **7.2 Conclusiones.**

De acuerdo con los resultados obtenidos no se pudo probar la hipótesis de que los pacientes enfermos con EM de la población quiteña tuvieran niveles más bajos de vitamina D en comparación con individuos sanos pareados por sexo, edad y color de piel. Sin embargo se encontró rangos de deficiencia solamente en los pacientes con EM.

Los pacientes con EM mostraron niveles similares a los de la población general de Pichincha y toda la población estudiada (casos y controles) mostraron deficiencia de Vitamina D.

La correlación entre niveles bajos de vitamina D y severidad de la enfermedad según la escala de Kurtzke no fue significativa, demostrando que la severidad en el grupo de estudio se debe otros factores antes que al déficit de la vitamina D.

No se pudo corroborar del todo que los pacientes con Esclerosis Múltiple y niveles séricos insuficientes o deficientes de vitamina D tienen mayor número de recaídas de la enfermedad, ya que al realizar una correlación entre recaídas y niveles de vitamina D no fue significativa. Adicionalmente, existe una tendencia que sugiere que a menor nivel de Vitamina D determinado en ese momento, mayor número de recaídas a lo largo de la enfermedad.

Se encontró que existe una correlación estadísticamente significativa entre el número de años de evolución de la enfermedad y el número de recaídas, lo que sugiere que el mayor número de recaídas en esta serie se deben a una mayor duración de la enfermedad.

Por medio de una regresión lineal se demostró que son factores predictores de adecuados niveles de vitamina D la presencia de un fototipo de Fitzpatrick tipo I y tener una la exposición solar mayor a dos horas. La edad a su vez es un predictor de riesgo de deficiencia e insuficiencia de vitamina D. Otros factores como comorbilidades asociadas y tabaquismo, no demostraron tener un impacto significativo en los niveles de Vitamina D.

Se realizaron otras observaciones de interés tales como que al realizar diferencia de promedios entre los niveles de vitamina D y el Fototipo de Fitzpatrick, los fototipos

cutáneos I, II, III y IV manejaron medias de más de 30 ng/ml en cuanto que el fototipo V y VI mostraron medias en rango de deficiencia. Luego de esta observación se podría deducir que probablemente la deficiencia de vitamina D en pacientes con EM en países andinos como el nuestro, se deba más al fototipo cutáneo que a factores pertinentes a la propia enfermedad, como lo es el grado de discapacidad que impida exposición solar y la edad. Esta particular condición nos pone en desventaja para manejar niveles séricos adecuados de Vitamina D y por ende ser más propensos a enfermedades como Esclerosis Múltiple. Algunos autores señalan que la síntesis de la vitamina D en los meses de primavera y verano sería suficiente para mantener los niveles adecuados de vitamina D durante la el invierno en países de 4 estaciones, pero esto es contradictorio ya que en este estudio, como en otros estudios se ratifica que la insuficiencia de vitamina D es prevalente en poblaciones con piel oscura independientemente de la estación.

### **7.3 Recomendaciones.**

Dado que en este estudio no fue posible identificar diferencias entre los niveles de vitamina D en pacientes con EM frente a controles sanos de la población general pareados por sexo, edad y color de piel utilizando una metodología retrospectiva, se recomienda realizar una observación prospectiva tipo cohorte desde el momento del diagnóstico pareando cada caso con un sistema de variables más amplio (es decir considerar entre otras variables consumo de tabaco, ocupación, estado nutricional y exposición solar) con el objetivo de realizar una selección más precisa de los controles. De este modo se puede aumentar la potencia estadística de la observación y también evaluar la evolución de los niveles de vitamina D durante el curso de la enfermedad.

Se debería realizar una segunda fase de este estudio, realizando una intervención prospectiva donde se evalué los efectos a largo plazo de la suplementación controlada y estandarizada de vitamina D. Se deberá tener especial énfasis en los casos donde se identificó insuficiencia y deficiencia para observar si la repleción de este micro nutriente influye en la evolución de la enfermedad a futuro.

Se debe realizar una evaluación poblacional de los niveles de vitamina D en individuos que habitan en la región andino-ecuatorial con el objetivo de identificar los verdaderos puntos de corte para niveles óptimos, suficiencia, deficiencia e insuficiencia de vitamina D en individuos sanos de esta población. De este modo se puede evitar el sesgo generado por el empleo de niveles de vitamina D provenientes de personas que habitan en latitudes extremas.

Elaborar una guía de tratamiento específica para el tratamiento de la EM en la población del Ecuador donde se tomen en cuenta los niveles de vitamina D y se establezcan pautas de suplementación basadas en niveles de este micro nutriente ajustados a la realidad de la población, tomando en cuenta fototipos cutáneos, estilo de vida, edad, etc.

Es necesario realizar un estudio poblacional multicéntrico en varias latitudes en pacientes con EM para poder evaluar el verdadero efecto de la vitamina D en la presentación, manifestaciones y pronóstico de la enfermedad. En este estudio se debería utilizar una metodología estandarizada no solo para la selección de casos sino también para la toma de

muestra y análisis de los niveles de vitamina D con el objetivo de eliminar al máximo todos los factores distractores.

## 8. Referencias Bibliográficas:

1. Abad P, Perez M, Castro E, Alarcón T, Santibáñez R, Díaz F. *Prevalence of multiple sclerosis in Ecuador*. Neurologia 2010; 25:309-13.
2. Abad P, et al. (2012) LACTRIMS consensus document for the pharmacological treatment of the multiple sclerosis and its clinical variants. Rev Neurol; 55:737-48.
3. Alfonso L. et al. (2012) Vitamin D and its "non-classical" effects; Rev. Esp. Salud Pública vol.86 no.5 Madrid set.-oct.
4. Akram, D. et al. (2013). *Vitamin D levels in African Americans and Caucasian with relapsing multiple sclerosis relationship with disease course*. Abstract presented at the American Academy of Neurology, San Francisco.
5. Amerongen, BM Van (2004), *Multiple sclerosis and vitamin D: an update* European Journal of Clinical Nutrition 1–15
6. Auer DP et al. (2000) *Seasonal fluctuations of gadolinium-enhancing magnetic resonance imaging lesions in multiple sclerosis*. Ann Neurol, 47:276-277
7. Barahona J, Victor P (2014) *Síntomas y Signos de la Esclerosis Múltiple*. Esclerosis Múltiple para el médico en la práctica diaria, 76-87
8. Bischoff-Ferrari, H. et al. (2009) *Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials*. BMJ 339: b3692.
9. Boonstra A, et al. (2001) *1alpha, 25dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naïve CD4 (+) T cells to enhance the development of Th2 cells*. J Immunol 167:4974-4980.
10. Burton JM, et al. (2010) *A phase I/II dose –escalation trial of vitamina D3 and calcium in multiple sclerosis* .Neurology 73:1852 1859
11. Bischoff-Ferrari, H. et al. (2009) *Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials*. BMJ 339: b3692.
12. Carrá A, et al. (2011) *Optimizing outcomes in multiple sclerosis: consensus guidelines for the diagnosis and treatment of multiple sclerosis in Latin America*: Ther Adv Neurol Disord; 4:349-60.
13. Calvo, M. et al. (2004) *Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs*. Am J Clin Nutr 80(Suppl.): 1710–1716.
14. Charles P et al. (2013) *Contribution of vitamin D insufficiency to the pathogenesis*



- of multiple sclerosis*. Therapeutic Advances in Neurological Disorders 2013.
15. Correale, J et al. (2009) *Immunomodulatory effects of Vitamin D in multiple sclerosis*. Brain; 132(Pt 5): 1146-60.
  16. Correale, J. et al. (2010) *Gender differences in 1, 25 dihydroxyvitamin D3 immunomodulatory effects in multiple sclerosis patients and healthy subjects*. J Immunol 185: 4948–4958.
  17. Cristiano E, et al. (2013) *The epidemiology of multiple sclerosis in Latin America and the Caribbean: a systematic review*. Mult Scler; 19:844-54.
  18. Dawson-Hughes, B. et al. (2005) *Estimates of optimal vitamin D status*. Osteoporos Int. 2005 Jul; 16(7):713-6. Epub 2005 Mar 18.
  19. Dobson, R. et al. (2009) *The month of birth effect in multiple sclerosis: systematic review, meta-analysis and effect of latitude*. J Neurol Neurosurg Psychiatry 18: 1522–1528.
  20. Dörr et al. (2013) *Can we prevent or treat multiple sclerosis by individualised vitamin D supply*. The EPMA Journal
  21. Freedman MS, et al. (2013) *Treatment Optimization in MS: Canadian MS Working Group Updated Recommendations*. Can J NeurolSci; 40:307-23.
  22. Fragoso, Y. et al. (2012) *Month of birth does not seem to interfere with the development of multiple sclerosis later in life in Brazilian patients*. Neuroepidemiology 39: 70–71.
  23. Givon, U. et al. (2012) *The month of birth and the incidence of multiple sclerosis in the Israeli population*. Neuroepidemiology 38: 64–68.
  24. García Merino A, et al. (2010) *Spanish Neurology Society consensus document on the use of drugs in multiple sclerosis: escalating therapy*. Neurology; 25:378-90.
  25. Genuis, S et al (2009). *Vitamin D Status of Clinical Practice Populations at Higher Latitudes: Analysis and Applications*. Int. J. Environ. Res. Public Health, 6, 151-173; doi:10.3390/ijerph6010151
  26. Gorgoni B, et al.(2002) *V. C/EBP $\beta$  gene inactivation causes both impaired and enhanced gene expression and inverse regulation of IL-12 p40 and p35 mRNAs in macrophages*. J Immunol 167:1945-195
  27. Grytten, N. et al (2015). *A 60-year follow-up of the incidence and prevalence of multiple sclerosis in Hordaland County, Western Norway*. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015 Feb 24. pii: jnnp-2014-309906. doi: 10.1136/jnnp-2014-309906
  28. Hatamian, H et al. (2013) *Is serum vitamin D levels associated with disability in*

- patients with newly diagnosed multiple sclerosis?* Ir J neurol; 12(2): 41-46
29. Hintzpeter B, et al. (2008). *Vitamin D status and health correlates among German adults*. Eur J Clin Nutr. Sep; 62(9):1079-89.
  30. Holick, M. (2004) *Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease*. Am J Clin Nutr 80 (Suppl.): 1678–1688.
  31. Hollick MF, et al.( 2008) *Vitamin D deficiency a worldwide problem with health consequences*. Am J Clin Nutr ; 87;10805-68
  32. Holick MF, et al. (2011) *Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline*. J Clin Endocrinol Metab; 96:1911-30.
  33. Holmoy T, et al (2009) *25-hydroxyvitamin D in cerebrospinal fluid during relapse and remission of multiple sclerosis*. Mult Scler; 15(11):1280-5.
  34. Handunnetthi L. et al. (2010) *Multiple sclerosis, vitamin D, and HLA-DRB1\*15*. Neurology 010;74:1905-1910.
  35. Hyppönen E, Power C. *Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors*.(2007) Am J Clin Nutr. 2007 Mar; 85:860-8.
  36. INHAMI y CONELEC 2008, basado en los datos de sistemas satelitales de NREL (National Renewel Energy Laboratory).
  37. James E, et al (2013) SV. *The effect of vitamin D-related interventions on multiple sclerosis relapses: a meta-analysis*. Mult Scler. Oct; 19(12):1571-9. doi: 10.1177/1352458513489756. Epub 2013 May 22.
  38. Kimball S. et al. (2011) *Cholecalciferol plus Calcium Suppresses Abnormal PBM reactivity in patients with Multiple Sclerosis*.J Clin Endocrinol Metabolism 96: 2826 2834.
  39. Koenig J,et al (2000) . *Status of calcium and vitamin D of different population groups in Austria*. Int J Vitam Nutr Res.Sep;70(5):214-20.
  40. Kragt, J et al. (2009) *Higher levels of 25-hydroxyvitamin D are associated with a lower incidence of multiple sclerosis only in women*. Mult Scler; 15(1): 9-15.
  41. Kampman, M. et al. (2012) *Effects of vitamin D3 supplementation on relapses, disease progression, and measures of function in person with multiple sclerosis: exploratory outcomes from a double blind randomizes controlled trial Multiple Sclerosis Journal*, 181144-51

42. Lamberg-Allardt CJ, et al (2001) .*Vitamin D deficiency and bone health in healthy adults in Finland: could this be a concern in other parts of Europe?* Bone Miner Res. Nov; 16:2066-73.
43. Laplaud D, et al. (2012) *Recommendations for the management of multiple sclerosis relapses*. Rev Neurol (Paris); 168:425-33.
44. Mandia, D et al. (2014) *Enviromental Factors and Multiple Sclerosis Severity: A descriptive study*. Int. J. Environ. Res. Public Health, 11, 6417-6432
45. Marcus JF,et al. (2012): *Severe hypercalcemia following vitamin D supplementation in a patient with multiple sclerosis: a note of caution*. Arch Neurol 69:129–132.
46. Mowry, E. al. (2012) *Vitamin D status predicts new brain magnetic resonance imagingactivity in multiple sclerosis*. Ann Neurol 72: 234–240.
47. Munger KL,Levin LI,Hollis BW,Howard NS (2006) *Serum-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple Esclerosis*. 2006.
48. Munger KL, et al. (2004) *Vitamin D intake and incidence in multiple sclerosis*. Neurology 62:60-65
49. Mosayebi G, et al. (2011). *Therapeutic effect of vitamin D3 in multiple sclerosis patients*. Immunol Invest 40:627-639
50. Mowry, E et al.(2012).*Vitamin D status predicts new brain magnetic resonante Imaging activity in multiple sclerosis* .Annals of Neurology ,72(2):234-40.
51. McKenna MJ. et al (1992) *Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly*.(1992 ) Am J Med. Jul;93:69-77.
52. Nieves,et al (1994). *High prevalence of vitamina D deficiencyand reduced bone mass in multiple sclerosis*. Neurology 44(9):1687-1692
53. O’Gorman, C.O y Broadley S. A. (2014) *Smoking and multiple sclerosis: evidence for latitudinal and temporal variation*. J Neurol. Jun 13 DOI 10.1007/s00415-014-7397-5
54. Pascual, Alfonso L. Calle y Torrejón María J (2012). *La vitamina d y sus efectos “no clásicos”* Rev Esp Salud Pública 2012; 86: 453-459.
55. Penna G, et al. (2000) *1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation*.J Immunol 164:2405-2411
56. Poser, C. M. (1995) *Viking voyages: the origin of multiple sclerosis?: An essay in medical history*. Acta Neurologica Scandinavica Volume 91, Issue S161, pages

11–22,

57. Quelvennec E. et al. (2003) *Genetic and functional studies in multiple sclerosis patients from Martinique attest for a specific and direct role of the HLA-DR locus in the syndrome. Tissue Antigens*; 61:166-171
58. Ramagopalan, S. et al. (2009) *HLADRB1 and month of birth in multiple sclerosis. Neurology* 73: 2107–2111.
59. República de la Información: [info@energia.org.ec](mailto:info@energia.org.ec). Copyright © 2013 CIE - Corporación para la Investigación Energética.
60. Rojas OL et al. (2010) *HLA class II polymorphism in Latin American patients with multiple sclerosis. Autoimmun Rev*;9:407-13.
61. Ross, C. para el Institute of Medicine. (2011) *Dietary reference intakes for calcium and Vitamin D*. Washington, DC: National Academies Press.
62. Sachan A, et al (2005) . *High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in northern India. Am J Clin Nutr.* May; 81:1060-4.
63. Shaygannejad V et al (2012) *Effects of adjunct low-dose vitamin d on relapsing-remitting multiple sclerosis progression: preliminary findings of a randomized placebo-controlled trial. Mult Scler Int* 2012; 2012:452-541.
64. Sintov, Ammon C. et al. (2014) *Pharmacological effects of Vitamin D and its analogs: recent developments. Drug Discovery Today* \_ Volume 00, Number 00 \_ June 2014
65. Smolders J et al. (2008) *Association of Vitamin D metabolite levels with relapse rate and disability in multiple sclerosis. Mult Scler*; 14(9):1220
66. Smolder J, et al. (2010) *Safety and T cell modulating effects of high dose vitamin D3 supplementation in multiple sclerosis. PLoS One.* Dec 13; 5(12): 5235. doi: 10.1371/journal.pone.0015235.
67. Stein MS, et al. (2011). *A randomized trial of high-dose vitamin D2 in relapsing-remitting multiple sclerosis. Neurology* 2011; 77:1611-1618.
68. Soilu-Hänninen M, et al. (2012). *A randomised, double blind, placebo controlled trial with vitamin D3 as an add-on treatment to interferon  $\beta$ -1b in patients with multiple sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry*; 83:565-571.
69. The National Health and Nutrition Examination Survey. *National Institute of Health 2009 Dietary supplement Facts 2009* [http: ods.od.nih.gov/factsheets/vitamind.asp](http://ods.od.nih.gov/factsheets/vitamind.asp)
70. Tremlett H. et al. (2008) *Monthly ambient, sunlight infections and relapse rates in*

*Multiple Sclerosis*. Neuroepidemiology 31:271-279

71. Tremlett, H et al. (2008) J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry published online 5 Jun 2008; doi:10.1136/jnnp.2008.145805
72. Ueda, P. et al. (2014) *Neonatal Vitamin D status and Risk of Multiples Sclerosis*. *Ann Neurol*;00:000-000
73. Corporación para la Investigación Energética (2013) *Energía solar en el Ecuador*. <http://www.energia.org.ec>.
74. Agencia Espacial Civil Ecuatoriana (2010). *Sistema de control orbital HERMES-A/MINOTAURO*. <http://www.exa.ec/bp31>



## **ANEXOS**

ANEXO I: ENCUESTA PARA LEVANTAR LOS DATOS DE INVESTIGACIÓN EN SUJETOS CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE
--

Cuestionario de calificación de caso para dosificación de Niveles Séricos de Vitamina D a nivel Pichincha en Hospital Metropolitano de Quito y Hospital Carlos Andrade Marín.

HCL

Fecha

Fecha de Nacimiento

Edad

Genero

Procedencia ( lugar de Nacimiento)

Lugar Donde Vive

Instrucción

Profesión

Número de Telf. y /o Celular

1.-Hace Cuantos Años le diagnosticaron de Esclerosis Múltiple?

.....

2.- Cuantas Recaídas de su enfermedad ha tenido .....

3.- Marque con una X si usted padece usted alguna de las siguientes enfermedades?

Depresión	Obesidad
DM2	Dislipidemia
Hipotiroidismo	HTA
Epilepsia	
Otras.....	Ninguna enfermedad

4.- Cuantas horas se expone al Sol al día ?

Más de 2 horas al día	Menos de dos horas al día
-----------------------	---------------------------

5.- Toma algún suplemento de vitamina D.?



Si	NO
----	----

Si su respuesta fue si Indique cual.....

6.- Se encuentra al momento en tratamiento para su enfermedad con alguno de los siguientes?

Avonex
REBIF
Fingolimod
Otro tratamiento detalle cual
Sin tratamiento.

7.Consumo de tabaco :Por favor marque con una X si

A fumado alguna vez
Fumador hace pocos meses ( previos doce meses).....
Si es que fuma actualmente marque con una x que cantidad
Fumador de menos de 10 Unidades día
Fumador de 10 a 19 Unidades
Fumador de más de 20 Unidades

8.- Uso crónico fármacos como antidepresivos y ansiolíticos

Si

No

De indicar Si, mencione cuales ,por que motivo y hace cuanto tiempo-----

9.-Actividad física ( Mencione deportes, hobbies que usted realice)

Si

No

De indicar Si, mencione cual y cuantas veces por semana-----

10.- Embarazo o lactancia actual.

Si

No

11.- Dietas especiales.( ej: rica en pescados , vegetariana, no lácteos, no gluten)?

Si

No

De indicar Si, mencione cual y hace cuanto tiempo-----

.....

12.- Según el siguiente gráfico catalogue se color de piel y encierre en un círculo.



1.-Cuestionario de calificación de caso para dosificación de Niveles Séricos de Vitamina D a nivel Pichincha en Hospital Metropolitano de Quito y Hospital Carlos Andrade Marín.

Fecha

Edad

Genero

Lugar Donde Vive

Instrucción

Profesión

Número de Telf. y /o Celular

2.- Según el siguiente gráfico catalogue se color de piel y encierre en un círculo.



3.- Marque con una x si usted a presentado alguna de las siguientes:

1. Consumo crónico de alcohol o drogas de abuso.
2. Hospitalización actual o reciente.
3. Enfermedad crónica
4. Obesidad o tratamientos quirúrgicos de ésta.
5. Transfusiones recientes.
6. Uso crónico de determinados fármacos (antidepresivos, ansiolíticos anticonvulsivantes).
7. Actividad física crónica de moderada a intensa.

ANEXO III: Consentimiento informado para la realización de dosificación de Vitamina D.

Nombre

Apellidos

Fecha

## **IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO**

Este documento informativo pretende explicar, de forma sencilla, el dosaje de Vitamina D, así como los aspectos más importantes más frecuentes que, como consecuencia de esta intervención, puedan aparecer.

La realización de mi prueba puede ser filmada con fines científicos o didácticos, salvo que yo manifieste lo contrario

## **OBJETIVOS DEL PROCEDIMIENTO Y BENEFICIOS QUE SE ESPERAN ALCANZAR**

El objetivo de este estudio es pues la elaboración de valores de referencia para la forma D3 de la 25-hidroxi vitamina D en Pacientes con EM.

### **DECLARO:**

Que el Doctor me ha explicado que es conveniente proceder en mi situación, a la dosificación de Vitamina D por lo siguiente.

1. La medida de las concentraciones de 25-hidroxi vitamina D es crucial para el seguimiento de pacientes con diversas patologías, relacionadas con Autoinmunidad como Esclerosis Múltiple .
2. En el organismo existen las formas D2 y D3 . La forma D3 es la más estable. Por tanto, su cuantificación es apta para evaluar los almacenes de esta vitamina en el paciente.

**RIESGOS FRECUENTES: No existe ningún riesgo en la realización de la prueba.**

Afirmo:

He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

Por ello, manifiesto que estoy satisfecho con la información recibida y que comprendo el alcance y los riesgos del tratamiento, y en tales condiciones,

### **Paciente**

Nombre

Apellidos

Firma

### **Familia Tutor o representante**

Nombre

Apellidos

Firma

#### ANEXO IIV: CRITERIOS DE MC DONALD

Ataques Clínicos	Lesiones	Criterios adicionales para el diagnóstico
2 o más	Evidencia clínica objetiva de 2 o más lesiones <b>○</b> Evidencia clínica objetiva de 1 lesión con evidencia histórica razonable de un ataque anterior.	Ninguno. La evidencia clínica es suficiente. Otra evidencia es deseable pero debe ser consistente con la EM.
2 o más	Evidencia clínica objetiva de 1 lesión	Diseminación en espacio demostrada por ➤ ≥1 lesión T2 en por lo menos dos áreas del SNC típicas de la EM (periventricular, juxtacortical, infratentorial, o médula espinal); <b>○</b> ➤ Se espera otro ataque clínico que comprometa otro sitio diferente en el SNC
1	Evidencia clínica objetiva de 2 o más lesiones	Diseminación en tiempo demostrada por ➤ Lesiones asintomáticas vistas con y sin contraste en cualquier momento; <b>○</b> ➤ Una lesión nueva T2 y/o lesiones demostradas con contrastes en la RM de seguimiento sin importar el momento; <b>○</b> ➤ Se espera un segundo ataque clínico
1	Evidencia clínica objetiva de 1 lesión	Diseminación en espacio demostrada por ➤ ≥1 lesión T2 en por lo menos dos áreas del SNC típicas de la EM (periventricular, juxtacortical, infratentorial, o médula espinal); <b>○</b> ➤ Se espera otro ataque clínico que comprometa otro sitio diferente en el SNC <b>y</b> Diseminación en tiempo demostrada por ➤ Lesiones simultáneas asintomáticas vistas con y sin contraste en cualquier momento; <b>○</b> ➤ Una lesión nueva T2 y/o lesiones demostradas con contrastes en la RM de seguimiento sin importar el momento; <b>○</b> ➤ Se espera un segundo ataque clínico
0 (progresión desde el comienzo)		Un año de la progresión de la enfermedad (retrospectiva o prospectiva) <b>y</b> por lo menos 2 de estos 3 criterios: ➤ Diseminación en espacio en el cerebro basada en ≥1 lesión T2 en las regiones periventricular, juxtacortical o infratentorial; ➤ Diseminación en espacio en la médula espinal basada en ≥2 lesiones T2; <b>○</b> ➤ LCR positivo

Abreviaciones: LCR – Líquido Cefalorraquídeo; RM- Resonancia Magnética; SNC- Sistema Nervioso Central

Fuente: Traducido del documento de National MS Society 2010 Revised McDonald MS Diagnostic Criteria.

## ANEXO V: ESCALA DE DISCAPACIDAD DE KURTZKE

### Cuadro N° 2: Escala de discapacidad de Kurtzke.

- 0 – Examen neurológico normal.
- 1 – No hay incapacidad, signos mínimos (por ej.: signo de Babinski, disminución de la sensibilidad vibratoria).
- 2 – Incapacidad mínima (por ej.: ligera debilidad, ligera alteración de la marcha, sensibilidad o vista).
- 3 – Incapacidad moderada a pesar de ser completamente ambulatorio (por ej.: monoparesia, ataxia moderada).
- 4 – Incapacidad relativamente severa a pesar de ser completamente ambulatorio, capaz de ser autosuficiente y de estar levantado y andando por alrededor de 12 hs. al día).
- 5 – Incapacidad suficientemente severa para impedir trabajar todo el día.
- 6 – Requiere asistencia para caminar (por ej.: bastones, muletas, refuerzos).
- 7 – Restringido a una silla de ruedas, capaz de hacerla rodar, sentarse y dejar la silla solo.
- 8 – Restringido a la cama pero con uso efectivo de los brazos.
- 9 – Paciente en coma totalmente imposibilitado.
- 10 – Muerte debida a esclerosis múltiple

Fuente: <http://www.spem.org/biblioteca/dossiers>.

## ANEXO VI: ESCALA DE FITZPATRICK

Fototipo de piel	Definición del típico fototipo de piel	Reacción de la piel con sobreexposición a la luz UV	Comentarios sobre el fototipo de piel
<b>I</b>	Cabello pelirrojo, rubio. Ojos azules, verdes. Piel muy clara.	Siempre se quema. No se broncea.	Pálido, a veces con pecas. Generalmente admite que se quema.
<b>II</b>	Cabello claro a intermedio. Ojos claros a intermedios. Piel clara a intermedia.	Generalmente se quema. Raramente se broncea.	Debería ser la primera consideración en la tipificación de la piel clara (aparte del evidente tipo de piel 1). Generalmente no reconoce que se quema pero admite adquirir tonos rosados y necesita proteger la piel del sol.
<b>III</b>	Cabello de color intermedio. Ojos intermedios a oscuros. Piel intermedia a oliva.	Se quema moderadamente. Generalmente se broncea.	Generalmente no reconoce que se quema ligeramente si la exposición es moderada. Comentará que "teniendo cuidado, puede conseguir un buen bronceado".
<b>IV</b>	Cabello oscuro. Ojos oscuros. Piel de oliva oscura a moreno claro.	Se quema levemente. Moreno moderado.	Generalmente considera que se broncea con facilidad. Con exposiciones "moderadas" en climas septentrionales rara vez sufre quemaduras. Se sorprende cuando se quema "ligeramente" al visitar lugares con mayor intensidad.
<b>V</b>	Cabello oscuro. Ojos oscuros. Piel morena.	Rara vez se quema. Moreno oscuro.	Se quema cuando no ha estado expuesto al sol durante meses o al exponerse a niveles muy altos de intensidad solar (+100 en la escala SUNSOR – un día de verano soleado en España).
<b>VI</b>	Cabello oscuro. Ojos oscuros. Piel muy oscura.	No se quema. No hay cambio en el color.	Estos individuos tienen una pigmentación muy buena que les brinda una protección excepcional a la luz ultravioleta.

Fuente: <https://ellipsespain.wordpress.com>

## ANEXO VII: ESTUDIOS DE PREVALENCIA DE DEFICIT DE VITAMINA D EN EM ANIVEL MUNDIAL

Reference	Cohort provenance: country (region or city)	Age (years) Mean $\pm$ SD (range)	Sample size, <i>N</i>	25-OH-D serum level (nmol/liter): mean $\pm$ SD (range)	MS form
Soilu-Hänninen <i>et al.</i> [2005]	Finland (Turku)	36 $\pm$ 1.4	40	<b>41 <math>\pm</math> 5 (W), 58 <math>\pm</math> 3 (S)</b>	RRMS
Smolders <i>et al.</i> [2008b]	The Netherlands (Maastricht)	NA	126	<b>72 <math>\pm</math> 31</b>	RRMS
Hiremath <i>et al.</i> [2009]	USA (Baltimore)	42 $\pm$ 13	199	<b>71 <math>\pm</math> 39</b>	CIS, RRMS, SPMS
Kragt <i>et al.</i> [2009]	The Netherlands (Amsterdam)	45 $\pm$ NA	103	<b>59 <math>\pm</math> 25 (W), 97 <math>\pm</math> 34 (S)</b>	RRMS, SPMS
Mowry <i>et al.</i> [2010]	USA (San Francisco and New York)	15 $\pm$ 3	110	<b>55 <math>\pm</math> 22</b>	CIS, RRMS
Pierrot-Deseilligny and Souberbielle [2010]	France (Paris region)	36 $\pm$ 12	32	<b>45 <math>\pm</math> 16</b>	CIS
Shaygannejad <i>et al.</i> [2010]	Iran (Isfahan)	36 (15–55)	50	<b>48 <math>\pm</math> NA</b>	RRMS
Simpson <i>et al.</i> [2010]	Australia (Tasmania)	44 $\pm$ 10	145	<b>42 <math>\pm</math> NA (W), 74 <math>\pm</math> NA (S)</b>	RRMS
Banwell <i>et al.</i> [2011]	Canada (multiple centres)	9.5 $\pm$ 4.5	302	<b>63 <math>\pm</math> 28</b>	CIS
Dabbaghmanesh and Yousefipour [2011]	Iran (Shiraz)	35 $\pm$ 8	82	<b>55 <math>\pm</math> 54</b>	RRMS, SPMS
Lonergan <i>et al.</i> [2011]	Ireland (3 centres)	46 (21–80)	329	<b>38 (13–161)</b>	RRMS, SPMS
Neau <i>et al.</i> [2011]	France (Poitiers region)	46 $\pm$ 23	170	<b>46 <math>\pm</math> 23</b>	RRMS, SPMS
Steffensen <i>et al.</i> [2011]	Norway (Tromsø)	39 (21–50)	35	<b>55 <math>\pm</math> 29</b>	RRMS
Yildiz <i>et al.</i> [2011]	Switzerland (St Gallen)	38 $\pm$ 10	80	<b>57 <math>\pm</math> 29</b>	RRMS
Bäärnhielm <i>et al.</i> [2012]	Sweden (Stockholm)	39 $\pm$ 10	1013	<b>63 <math>\pm</math> NA</b>	RRMS
Kampmann <i>et al.</i> [2012]	Norway (Tromsø)	40 (21–50)	35	<b>48 (20–120)</b>	RRMS
Kirbas <i>et al.</i> [2012]	Turkey (Rize)	NA (18–40)	30	<b>67 <math>\pm</math> 35</b>	RRMS
Løken-Amsrud <i>et al.</i> [2012]	Norway (multiple centres)	39 (19–58)	88	<b>67 (26–121)</b>	RRMS
Moen <i>et al.</i> [2012]	Norway (Oslo)	NA	99	<b>68 <math>\pm</math> 24</b>	CIS, RRMS
Pierrot-Deseilligny <i>et al.</i> [2012]	France (Paris region)	39 $\pm$ 10	156	<b>49 <math>\pm</math> 22*</b>	RRMS
Runia <i>et al.</i> [2012]	The Netherlands (Rotterdam)	39 (19–55)	73	<b>69 <math>\pm</math> NA</b>	RRMS
Šaltytė Benth <i>et al.</i> [2012]	Norway (multiple centres)	39 (19–48)	92	<b>68 <math>\pm</math> 26</b>	RRMS
Soilu-Hänninen <i>et al.</i> [2012]	Finland (Turku)	39 (22–53)	66	<b>54 (19–82)*</b>	RRMS
Triantafyllou <i>et al.</i> [2012]	Greece (Athens)	39 $\pm$ 10	119	<b>62 <math>\pm</math> 25</b>	RRMS

\*Before vitamin D supplementation.  
CIS, clinically isolated syndrome; MS, multiple sclerosis; NA, not available; RRMS, relapsing–remitting multiple sclerosis; S, in summer; SD, standard deviation; SPMS, secondary progressive multiple sclerosis; W, in winter.

Fuente: Charles Pierrot-Deseilligny and Jean-Claude Souberbielle *et al.* Contribution of vitamin D insufficiency to the pathogenesis of multiple sclerosis. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders* 2013



<b>ANEXO VIII.: CODIGOS A UTILIZARCE</b>
-Provincia de nacimiento, variable nominal se codificara la información con un número por Provincia .
-La edad, se calculará considerando la fecha de nacimiento y la fecha de ingreso a la institución donde se hizo el diagnóstico (Hospital Carlos Andrade Marín u Hospital METROPOLITANO).
-Se Codificara la exposición a la luz solar por día de la siguiente manera : Más de dos horas al día es positivo = 1 menos de dos horas al día negativo = 2 Dicha codificación no es usada al azar es tomada de el estudio del estudio descriptivo de (Danielle Mandia, 2014)
-Meses o Años desde el diagnóstico correctamente establecido de Esclerosis Múltiple según criterios de Mc. Donald, esta será una variable cuantitativa que se expresará en números.
-Comorbilidades se clasificará si existe una patología adicional, a la enfermedad de base por la que ingresa, y tendrá los siguientes códigos: 0= No co-morbilidad; 1= LES; 2= Alteración tiroidea; 3= Diabetes Mellitus 2 ; 4=HTA ; 5=Dislipidemia 6= Síndrome metabólico ;7 Obesidad, 8=Otras.
-Factor de riesgo tabaco: 0=No fumador ; 1=Ex fumador ;=2;fumador leve menos de 10 unidades día ,3=fumador moderado de 10 a 11 UI día; 4= fumador moderado más de 20 unidades día.
-Tipo EM: Remitente Recurrente RR = 1; Secundariamente Progresiva = 2; Primariamente Progresiva = 3; Progresiva Recidivante = 4
-Criterios de McDonald Cumple = 1 y No Cumple = 2
-Número de Recaídas en el último año , variable nominal se ingresará el número total
-Escala de Kurtzke al ser una variable cuantitativa se ingresara según la calificación obtenida:

<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0= Examen neurológico normal (todos los ítems de FS son de cero).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1.0= Ninguna incapacidad pero signos mínimos solamente en un apartado de la FS.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1.5= Ninguna incapacidad pero signos mínimos en más de un apartado de la FS.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2.0= Incapacidad mínima en un apartado de la FS (al menos uno con puntuación de 2).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2.5= Incapacidad mínima (dos apartados de la FS puntuando 2).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3.0= Incapacidad moderada en un FS (un FS puntúa 3 pero los otros entre 0 y 1). El paciente deambula sin dificultad.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3.5= Deambula sin limitaciones pero tiene moderada incapacidad en una FS (una tiene un grado 3) o bien tiene una o dos FS que puntúan un grado 2 o bien dos FS puntúan un grado 3 o bien 5 FS tienen un grado 2 aunque el resto estén entre 0 y 1.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4.0= Deambula sin limitaciones, es autosuficiente, y se mueve de un lado para otro alrededor de 12 horas por día pese a una incapacidad relativamente importante de acuerdo con un grado 4 en una FS (las restantes entre 0 y 1). Capaz de caminar sin ayuda o descanso unos 500 metros.</li> </ul>

- 4.5= Deambula plenamente sin ayuda, va de un lado para otro gran parte del día, capaz de trabajar un día completo, pero tiene ciertas limitaciones para una actividad plena, o bien requiere un mínimo de ayuda. El paciente tiene una incapacidad relativamente importante, por lo general con un apartado de FS de grado 4 (los restantes entre 0 y 1) o bien una combinación alta de los demás apartados. Es capaz de caminar sin ayuda ni descanso alrededor de 300 metros.

- 5.0= Camina sin ayuda o descanso en torno a unos 200 metros; su incapacidad es suficiente para afectarle en funciones de la vida diaria, . trabaja todo el día sin medidas especiales. Los equivalentes FS habituales son uno de grado 5 solamente, los otros entre 0 y 1 o bien combinaciones de grados inferiores por lo general superiores a un grado 4.

- 5.5= Camina sin ayuda o descanso por espacio de unos 100 metros; la incapacidad es lo suficientemente grave como para impedirle plenamente las actividades de la vida diaria. El equivalente FS habitual es de un solo grado 5, otros de 0 a 1, o bien una combinación de grados inferiores por encima del nivel 4.

- 6.0= Requiere ayuda constante, bien unilateral o de forma intermitente (bastón, muleta o abrazadera) para caminar en torno a 100 metros, sin o con descanso. Los equivalentes FS representan combinaciones con más de dos FS de grado 3.

- 6.5= Ayuda bilateral constante (bastones, muletas o abrazaderas) para caminar unos 20 metros sin descanso. El FS habitual equivale a combinaciones con más de dos FS de grado 3+.

<ul style="list-style-type: none"> <li>7.0= Incapaz de caminar más de unos pasos, incluso con ayuda, básicamente confinado a silla de ruedas y posibilidad de trasladarse de ésta a otro lugar, o puede manejarse para ir al lavabo durante 12 horas al día. El equivalente FS habitual son combinaciones de dos o más de un FS de grado 4+. Muy raramente síndrome piramidal grado 5 solamente.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>7.5= Incapaz de caminar más de unos pasos. Limitado a silla de ruedas. Puede necesitar ayuda para salir de ella. No puede impulsarse en una silla normal pudiendo requerir un vehículo motorizado. El equivalente FS habitual son combinaciones con más de un FS de grado 4+.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>8.0= Básicamente limitado a la cama o a una silla, aunque puede dar alguna vuelta en la silla de ruedas, puede mantenerse fuera de la cama gran parte del día y es capaz de realizar gran parte de las actividades de la vida diaria. Generalmente usa con eficacia los brazos. El equivalente FS habitual es una combinación de varios sistemas en grado 4.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>8.5= Básicamente confinado en cama la mayor parte del día, tiene un cierto uso útil de uno o ambos brazos, capaz de realizar algunas actividades propias. El FS habitual equivale a combinaciones diversas generalmente de una grado 4+.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>9.0= Paciente inválido en cama, puede comunicarse y comer. El equivalente FS habitual son combinaciones de un grado 4+ para la mayor parte de los apartados.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>9.5= Totalmente inválido en cama, incapaz de comunicarse o bien comer o tragar. El equivalente FS habitualmente son combinaciones de casi todas las funciones</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>10= Muerte por esclerosis múltiple.</li> </ul>
- Escala de Fitzpatrick:

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo I Blanco: muy justo; pecas. Siempre se quema, nunca se broncea</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo II Blanco: justo. Por lo general se quema, se broncea con dificultad</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo III color beige, muy común. A veces, quemaduras leves, se broncea poco</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo IV color beige con un tinte marrón, piel Mediterráneo de la raza caucásica.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo V color marrón oscuro. Muy raramente se quema, se broncea fácilmente</li> </ul>

#### ANEXO IX: MÁQUINA COBAS E-411 (ROCHE)



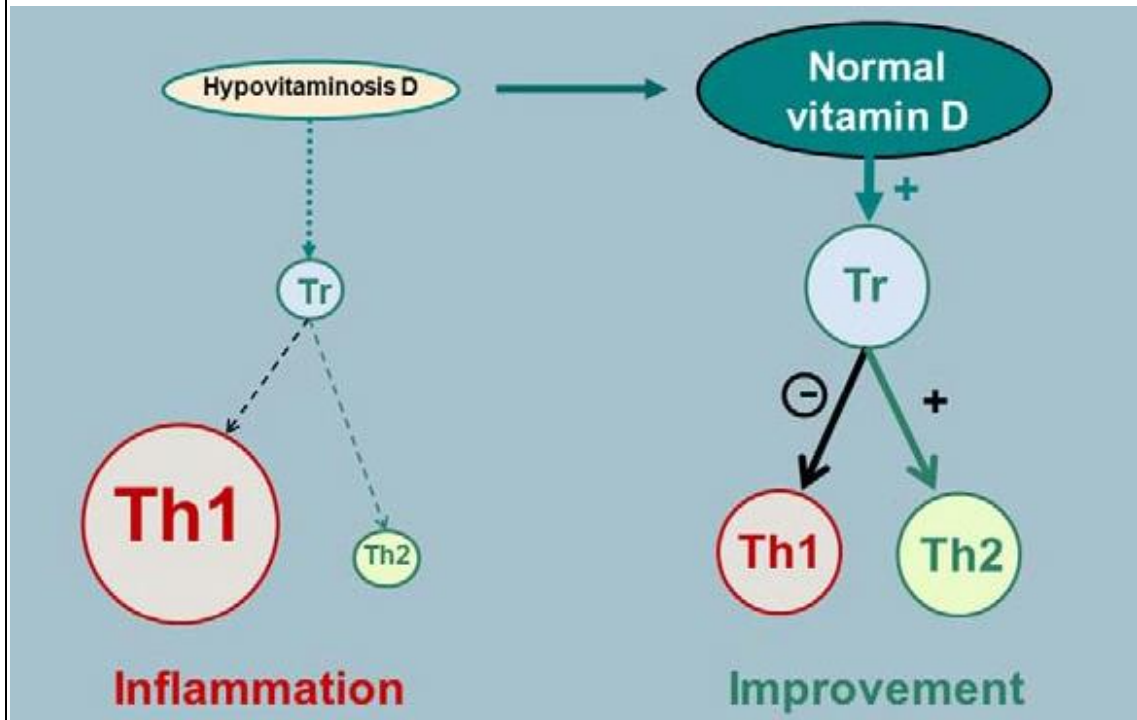
Fuente: <http://www.roche.com>

#### ANEXO X: CENTRIFUGACIÓN DE MUESTRAS



Fuente: Laboratorio del Hospital Metropolitano  
Centrifugación de muestras.

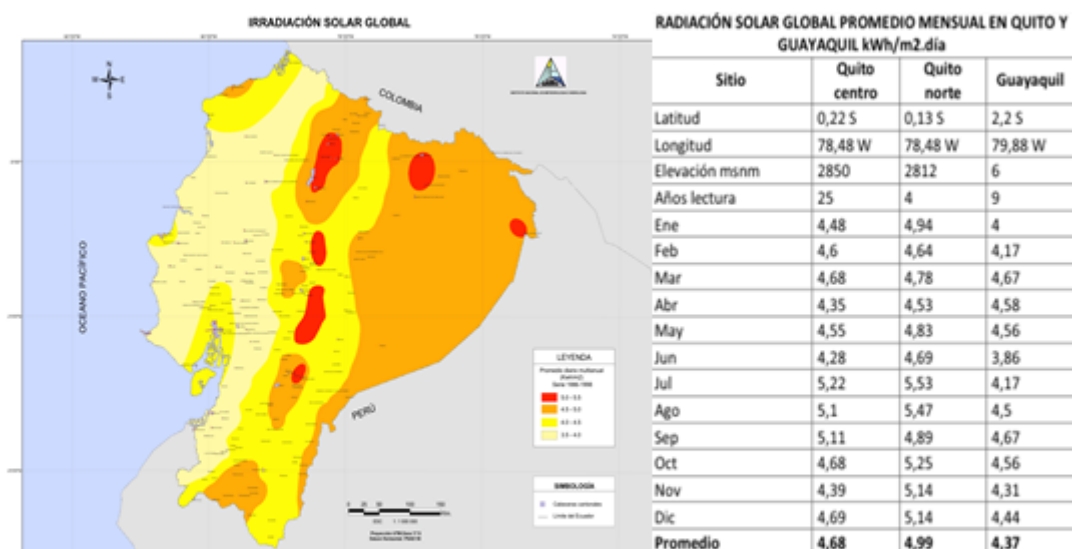
# ANEXO XI: INMUNOFISIOPATOLOGÍA DE LA VITAMINA D



Fuente: Charles Pierrot-Deseilligny and Jean-Claude Souberbielle et all. Contribution of vitamin D insufficiency to the pathogenesis of multiple sclerosis. Therapeutic Advances in Neurological Disorders 2013

## ANEXO XII: Mapa de Irradiación Solar del Ecuador

### Mapa de Irradiación Solar en Ecuador

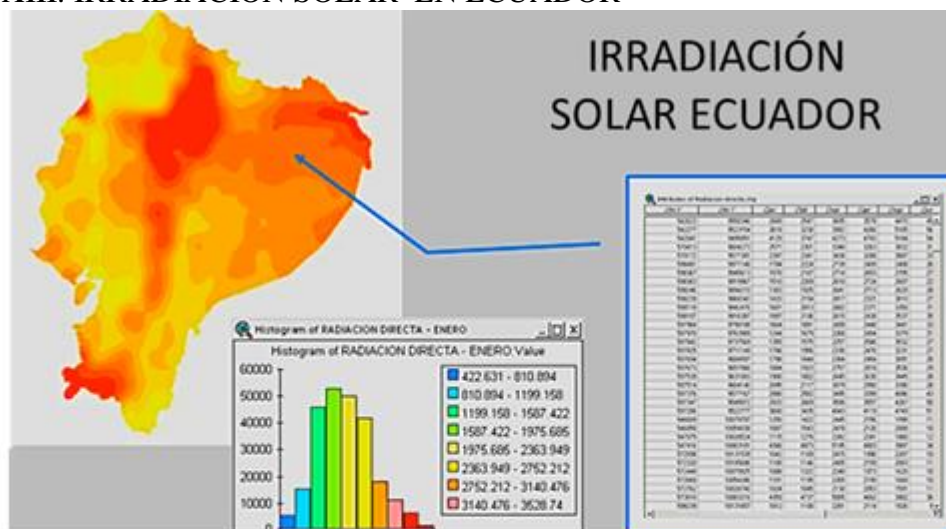


Podemos apreciar que existen zonas que fluctúan entre 700 horas/luz/ año hasta 2000 horas /luz/año.

Fuente: <http://www.energia.org.ec> .Corporación para la Investigación Energética. República de la Información Copyright © 2013 CIE



## ANEXO XIII: IRRADIACIÓN SOLAR EN ECUADOR



**Porcentaje de energía de la radiación solar:**  
Ecuador gracias a su localización geográfica cuenta con un promedio diario de 3.98 kWh/m<sup>3</sup>

**Energía potencial Anual:**  
**2000 horas de radiación solar al año.**

### Fotovoltaje

- Región Interandina ;  
4,5KWh/m<sup>2</sup>/día
- Litoral :3,5Wh/m<sup>2</sup>/día
- Amazónica: 3,8Wh/m<sup>2</sup>/día
- Galápagos :4,5 Wh/m<sup>2</sup>/día

Fuente: <http://www.energia.org.ec>. Corporación para la Investigación Energética.  
República de la Información Copyright © 2013 CIE